

HANDBUCH DER KELLERWIRTSCHAFT

II

HUGO SCHANDERL

DIE
MIKROBIOLOGIE
DES WEINES

F8,3Z9b1(GV)

N50

2901

CFTRI-MYSORE



2901

Die mikrobiologi

GSBUCHHANDLUNG EUGEN ULMER
in Stuttgart, zur Zeit Ludwigsburg

✓

TLW

—

HANDBUCH DER KELLERWIRTSCHAFT

HANDBUCH DER KELLERWIRTSCHAFT

Band I: Technologie der Weinbereitung und Weinpflege

Von Weinbauinspektor Gerhard Troost, Geisenheim a. Rh.
Etwa 300 Seiten mit vielen Bildern. Erscheint im Frühjahr 1951.

I. Die geschichtliche Entwicklung der Kellertechnik
II. Technik der Weinbereitung / III. Methoden des Ausbaues und der Pflege des Weines. Abstiche, Schwefelung, Klärung
IV. Verfahren zur Steigerung der Weinqualität / V. Technische Betriebskontrolle / VI. Flaschenweinbereitung
VII. Weinbehälter / VIII. Betriebsräume und ihre Einrichtung
IX. In Verkehrbringen von Faß- und Flaschenweinen
X. Verwertung der Trauben- und Weinrückstände / XI. Kellerbücher / XII. Förderung der Kellertechnik zur Steigerung der Weinqualität.

Band II: Die Mikrobiologie des Weines

Von Professor Dr. Hugo Schanderl, Geisenheim.
211 Seiten mit 108 Bildern. Geb. DM 12.—.

Band III: Weinchemie und Weinanalyse

Von Prof. Dr. Ernst Vogt, Freiburg i. Br. Etwa 260 Seiten mit vielen Bildern. Erscheint anfangs 1951.

I. Die Traube. Die wichtigsten Traubensorten / II. Der Traubenmost. Bestandteile / III. Der Wein. Die chemischen Vorgänge bei der Gärung, beim Ausbau, beim Säureabbau, bei der Zuckering, Schönung und Entsäuerung / IV. Topographie des Weines / V. Die chemische Untersuchung des Weines / VI. Weingesetzgebung.

II

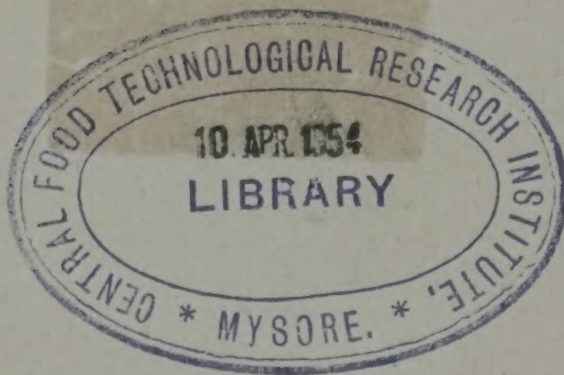
Die Mikrobiologie des Weines

Von

Prof. Dr. Hugo Schanderl

Vorstand des Botanischen Instituts der Lehr- und Forschungs-
anstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Geisenheim am Rhein

Mit 108 Abbildungen



EUGEN ULMER · STUTTGART / z. Z. LUDWIGSBURG
Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Naturwissenschaften

1950

2901

F8, 32961;(GV)

113 NSD

CFTRI-MYSORE



2901

Die mikrobiologi.

Copyright 1950 by

Verlag Eugen Ulmer K.G.,

Stuttgart z. Z. Ludwigsburg

Vorwort

Im Jahre 1936 ist von mir in der Schriftenreihe „Grundlagen und Fortschritte im Garten- und Weinbau“ Heft 28 mit dem Titel: „Die mikrobiologischen Grundlagen der Weinbereitung und Fruchteverwertung“ erschienen. Der Umfang dieses Heftes war auf 80 Seiten beschränkt; denn es sollte dem Praktiker und Studierenden der Weinkellerwirtschaft lediglich das Wichtigste aus dem Gebiet der Mikrobiologie des Weines bringen.

Inzwischen ist das genannte Heft schon seit einigen Jahren völlig vergriffen. Das Wissen um die mikrobiologischen Vorgänge im Wein hat sich unterdessen erheblich erweitert, auch das Interesse der Praxis an diesen Vorgängen hat sichtlich zugenommen. Es ließ sich nun der heutige Stoff nicht mehr in dem bescheidenen Umfang wie damals darstellen, ohne daß die Vollkommenheit des Überblickes darunter gelitten hätte. Da das gesamte deutschsprachige Schrifttum über Weinbau und Kellerwirtschaft stark überaltert und sehr renovierungsbedürftig ist, habe ich dem Verlag Ulmer vorgeschlagen, die betreffenden Bücher nicht mehr in der alten Form neuaufzulegen, sondern den Bedürfnissen der Neuzeit entsprechend neue Werke. So entstand der Plan, ein größeres Werk in 3 Teilen, nämlich Technologie, Mikrobiologie und Chemie des Weines zu schaffen. Jeder Teil soll für sich ein Ganzes, aber auch alle 3 Teile zusammen ein Ganzes bilden. Jeder Teil wird von einem Spezialisten des betreffenden Faches geschrieben.

Ich bin mir bewußt, daß manche Praktiker bei vorliegendem Teil „Die Mikrobiologie des Weines“ die Fülle des rein Theoretischen kritisieren und sagen werden, so viel Theorie wäre überflüssig.

Diesen Kritikern möchte ich jedoch gleich eingangs entgegenhalten, daß 1. dieses Buch nicht allein reinen Praktikern, sondern vor allem wissenschaftlich geschulten Kellerwirten und allen die es werden wollen, zum Studium dienen soll; daß 2. nach meiner pädagogischen Erfahrung die praktischen Arbeiten an dem köstlichsten aller Naturprodukte, dem Wein, nicht genug theoretisch unterbaut sein können. Kein Naturprodukt zeigt ein so mannigfaltiges Spiel von feinen und feinsten Nuancierungen, keines ist so abhängig von der Intelligenz und dem Fingerspitzengefühl seines Pflegers, wie gerade der Wein.

Die Pflege des Weines ist Kunst und Wissenschaft zugleich. Demjenigen, der mit Leib und Seele bei seinem Weinberuf ist, dem der Wein mehr als ein bloßes Handelsobjekt ist, ist es ein geistiges Bedürfnis und zugleich ein Genuß, etwas mehr Einblick in den Mikrokosmos des Weines und in die mannigfaltigen biochemischen Vorgänge, die sich in ihm abspielen, zu erhalten. Die Mehrung des Wissens um diese Dinge gehört auch zur Weinkultur, die es sowieso nötiger denn je hat, gestützt zu werden.

Da es sehr wenig deutschsprachiges Schrifttum über Schaumweinbereitung gibt und es eine Schrift über die spezielle Mikrobiologie der Schaumweinbereitung bisher überhaupt nicht gab, habe ich mich entschlossen, in einem Anhang alles das zusammenzustellen, was über diese Fragen gearbeitet worden ist.

Besonders vermerkt sei, daß auf Vollständigkeit der Angabe älterer Literatur kein Wert gelegt wurde. Dagegen wurde Wert auf möglichst lückenlose und genaue Anführung der neuzeitlichen Literatur gelegt. Außerdem wurde Wert darauf gelegt die Mikroorganismen, vor allem die Hefen, nicht allein mit Zeichnungen sondern auch mit möglichst zahlreichen Lichtbildern aufzuzeigen. Der Verlag ist meinen Ausstattungswünschen in großzügiger Weise entgegengekommen, wofür ihm Dank und Anerkennung gebührt.

Es würde mich freuen, wenn vorliegende Schrift eine ebenso freundliche Aufnahme finden würde, wie sie seinerzeit dem kleinen Heft „Die mikrobiologischen Grundlagen der Weinbereitung und Früchteverwertung“ vergönnt war.

Geisenheim, im Sommer 1950.

Der Verfasser.

Inhaltsübersicht

	Seite
I. Einleitung. Die historische Entwicklung der allgemeinen Gärungskunde und der speziellen Mikrobiologie des Weines	9
II. Die Mikroflora der Obstfrüchte, Moste und Weine	19
A. Die Zuckerpilze oder Hefen.	19
Wie gelangen die Gärungserreger auf die Traubenbeeren und andere Früchte?	19
Die mikrobiologischen Vorgänge in der Maische und in frisch gekel- teter Traubenmost	23
1. Die Gärung des Mostes	25
a) Definition des Begriffes Gärung	25
b) Geschichtlicher Überblick	25
c) Der Chemismus des Gärungsvorganges	26
2. Morphologie und Biologie der Zuckerpilze (Hefen)	28
a) Äußerer und innerer Bau der Hefezelle	28
b) Cytologie der Hefe	30
c) Variabilität und Mutation bei Hefen	34
d) Genetik der Hefen	36
e) Der biologische Kreislauf der Hefe in der freien Natur und unter den ihr aufgezwungenen Bedingungen der Weinkeller- wirtschaft	37
3. Isolierung und Reinkultur von Hefen	40
a) Die Kochsche Plattengußmethode	40
b) „ Lindnersche Tröpfchenmethode	41
c) „ vereinfachte Lindnersche Tröpfchenmethode nach V. Vučković	41
d) „ Isolierung mit Hilfe eines Mikromanipulators	42
4. Die Biochemie der Hefen.	44
„ Enzyme der Hefen	44
a) Die Hydrolasen	44
b) „ Desmolasen	45
Die Vitamine und Wachstumsstoffe der Hefen	46
Der Stickstoffhaushalt der Hefen	52
Die chemischen Vorgänge im oxydativen Stadium der Weinhefe „ Wasserstoffionenkonzentration (pH) und das Reduktions- Oxydationspotential (rH)	63
5. Die Systematik der bei der Weinbereitung eine Rolle spielenden Hefen.	71
Die Gattung Saccharomyces (Meyen) Reeb	74
Die Untergattung Zygosaccharomyces (Barker).	76
Die zugespitzten oder Apiculatushefen (Kloeckeraspora Niehaus)	78
Die Gattung Saccharomycodes Hansen	82
Die Gattung Schizosaccharomyces Lindner	84
Die sog. „Kahmhefen“	86
a) Die Gattung Mycoderma	90
b) „ „ Pichia Hansen	92
c) „ „ Willia „ (= Hansenula Sydow)	93
Die Gattung Brettanomyces Kufferath und Laer	94
„ sog. „Gärungsmonilien“	96
„ Torulahefen	97

	Seite
B. Die Spaltpilze oder Bakterien.	99
1. Allgemeine Morphologie der Weinbakterien	100
Die Frage der Sporenbildung der Weinbakterien	103
„ „ nach der Herkunft „ „	104
Der sog. „biologische Säureabbau“	106
Zur Frage des Zusatzes von künstlichen Kulturen (Reinkulturen) von Säureabbaubakterien	112
2. Die Systematik der Säureabbaubakterien der Trauben- und Obst- weine.	113
a) Die Bakterien des normalen Säureabbaues	113
b) „ „ „ krankhaften „	115
Das Mäuseln der Weine.	119
Die Buttersäurebakterien	122
„ Essigsäurebakterien	122
„ Biochemie der Essigsäuregärung	123
„ wichtigsten Arten der Essigbakterien	124
Nutzanwendungen aus der Physiologie der Essigbakterien für die praktische Kellerwirtschaft	126
C. Die in der Mikrobiologie der Weinbereitung direkt oder indirekt eine Rolle spielenden Schimmelpilze	126
1. Die Phycomycetes oder Algenpilze	127
2. „ Schimmelpilze aus der Eumyceten-Unterklasse der Asco- mycetes(-Schlauchpilze)	130
3. Fadenpilze aus der Gruppe der Fungi imperfecti	134
4. Zu den Basidiomycetes(-Ständerpilze) gehörende Fadenpilze	144
III. Experimenteller Teil	146
A. Physikalische Faktoren bei Gärungen	147
1. Temperatur (Wärme — Kälte).	147
2. Osmotischer Gegendruck	152
3. Die innere Oberfläche des Gärsubstrates.	154
B. Chemische Faktoren bei Gärungen	156
1. Sauerstoff- bzw. SO ₂ -Gehalt	156
2. Stickstoffgehalt	165
3. Eisen- und Kupfergehalt	168
4. Gerbstoffgehalt	172
5. Essigsäuregehalt	174
6. CO ₂ -Gehalt	176
C. Biologische Faktoren bei Gärungen	177
1. Spontangärung — Reingärung	177
2. Wettbewerb der Gattungen und Arten untereinander, gegenseitige Beeinflussung	182
3. Gattungs-, Art- und Rasseigenschaften von Hefen	184
IV. Anhang	186
Spezielle Mikrobiologie der Schaumweinbereitung	186
1. Zur Geschichte der Schaumweinbereitung	187
2. Champagner und Schaumwein	189
3. Ausbau und Schulung der sog. „Stillweine“	194
4. Die Herstellung eines Hefeansatzes	196
5. Zur Frage des Wertes von Zusätzen zu Schaumwein-Flaschen- gärungen	197
6. Die Gärtemperaturen bei der Schaumweinbereitung	198
7. „ biologischen und biochemischen Vorgänge während und nach der Schaumweingärung	199
8. Fehler und Krankheiten der fertigen Schaumweine	205
9. Ein Ausblick auf die kommende Entwicklung der Schaumwein- technik	206

I. Einleitung

Die gesamte Mikrobiologie ist eine verhältnismäßig junge Wissenschaft. Durch die Erfindung und die Vervollkommnung des Mikroskopes sind erst die Voraussetzungen zur Erforschung des Mikrokosmos geschaffen worden.

Das Phänomen der alkoholischen Gärung, das schon im 17. Jahrhundert die Wissenschaft zu interessieren begann, konnte erst nach Erfindung und Vervollkommnung des Mikroskopes endgültig geklärt werden.

Der erste Weinmikrobiologe war der Erfinder des Mikroskops, Antonius van Leeuwenhoek, der unter seine selbstgeschliffenen Linsen alles Mögliche, unter anderem auch die Sedimente von Wein brachte. So berichtete er in einem Brief vom März 1687 an die Royal Society in London ausführlich über mikroskopische Studien an Essig und Wein. Er hatte die Sedimente von französischen Rotweinen, trockenem Sherry, von „vinum Mosellanicum, vinum Rijnroviense, vinum Rhenanum, quod vulgo Hogmer dicitur“, untersucht. In der Bezeichnung „Hogmer“ erkennen wir Weine „Hochheimer“ Herkunft, die in England heute noch einfach „Hoc“ heißen. Wissenschaftlich inter-

essant ist, daß van Leeuwenhoek mit seinem urprimitiven Mikroskop bereits Bakterien sah und richtig abbildete. In Abb. 1 ist eine seiner Zeichnungen von Sedimenten Rheingauer Weine wiedergegeben. An dieser ist bemerkenswert, daß van Leeuwenhoek als erster Mensch Pilzhypen, und zwar diejenigen von *Botrytis cinerea*, den Edelfäulepilz, gesehen und abgebildet hat. Er selbst hielt diese Figur für einen kuriosen Kristall. Die Kammerung der Hypen, die Appressorien am Ende der Hypen und die Form der

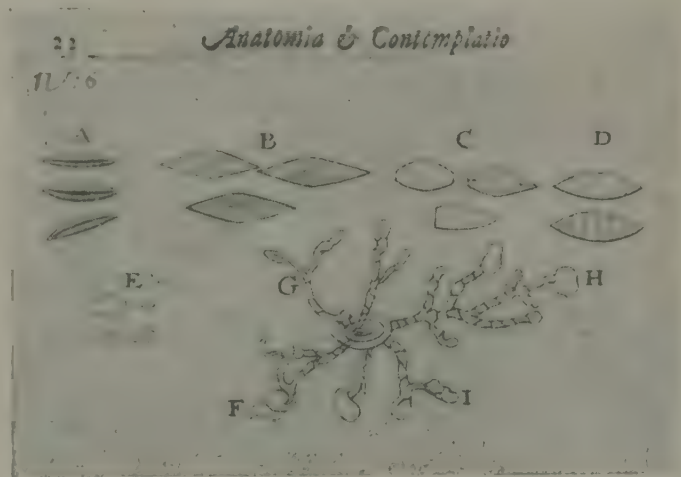


Abb. 1. Rheingauer Wein unter dem Mikroskop A. van Leeuwenhoeks 1687. A—E Kristalle weinsaurer Salze, F—H Hyphen von *Botrytis cinerea*.

Spore sind jedoch so charakteristisch, daß wir diese Zeichnung mit Sicherheit als erstes mikroskopisches Bild von *Botrytis cinerea* deuten dürfen.

Auf den Gang und die Entwicklung der Wissenschaft, vor allem der Wissenschaft der Gärung, haben die Leeuwenhoek'schen Entdeckungen keinen Einfluß gehabt. Aber in seine Lebenszeit (1632—1723) fielen die ersten

wissenschaftlichen Diskussionen über das Naturphänomen Gärung. Sie stammten von Willis (1659) und Stahl (1697). Nach ihnen sollten „innere Vibrationen“ das Wesen der Gärung sein, die zum Zerfall der Substanzen führen. Diese Theorie der inneren Vibration fand sogar noch im 19. Jahrhundert in der Person Liebig's einen Verfechter und Anhänger.

Im übrigen beherrschte um diese Zeit zum Teil immer noch die Lehre von der sog. „Urzeugung“ die wissenschaftliche Welt, obwohl Lazaro Spallanzani (1729—1799) und Scheele (1742—1786) mit zahlreichen scharfsinnigen Experimenten die Unhaltbarkeit und die Nichtexistenz einer Urzeugung nachgewiesen hatten.

1789, im Jahre der französischen Revolution, eröffnete Lavoisier den Reigen der chemischen Arbeiten über die alkoholische Gärung. Er machte die ersten quantitativen Untersuchungen und fand, daß bei der Gärung der Zucker in Aethylalkohol und Kohlensäure verwandelt wird. Der Hefe schrieb Lavoisier eine nebensächliche Bedeutung zu. Nach ihm handelte es sich um eine rein chemische Verwandlung von einem Stoff in zwei andere, ohne irgendwelchen Verlust. Die Studien Lavoisier's wurden von Gay-Lussac fortgeführt und fanden ihre Krönung in der Aufstellung der Gärungsformel (1810) $C_6H_{12}O_6 = 2 C_2H_5OH + 2 CO_2$.

Gay-Lussac sah merkwürdigerweise im Luftsauerstoff die Ursache der Gärung, weil sie nicht eintrat, wenn er die Gefäße mit Schwefel ausbrannte.

Zum ersten Male wurde 1803 von Louis Jaques Thénard die Hefe als wahre Ursache der Gärung in Erwägung gezogen. Auch Berzelius schrieb ihr 1836 wenigstens eine „katalytische“ Tätigkeit bei der Gärung zu. Aber Justus von Liebig verwarf alle direkte und indirekte Anteilnahme der Hefe bei der Gärung und verfocht eifrig die alte Willis-Stahlsche Theorie von dem Zerfall des Zuckers durch innere Vibrationen der Zuckermoleküle.

Nichtsdestoweniger war mit den ersten Vermutungen eines Thénard und Berzelius unverkennbar das Zeitalter der vitalistischen Gärungstheorie angebrochen. Es mehrten sich immer mehr Beweise für die Richtigkeit der vitalistischen Auffassung der Gärung.

Eine Arbeit des Deutschen Erxleben „Über die Güte und Stärke des Bieres“ (Prag 1818) fand wenig Beachtung. Und doch enthält sie eindeutige Beweise, daß die Hefe ein lebender Organismus und ihre Lebensfunktion die zu „gären“ ist.

Im Jahre 1837 erschienen ganz unabhängig voneinander 3 Arbeiten. Die eine stammte von dem Franzosen Cagniard de la Tour, die anderen von den Deutschen Kützing (einem Lehrer in Nordhausen im Harz) und Schwann (Physiologe in Köln). Alle drei Forscher waren unabhängig voneinander zur gleichen Erkenntnis gekommen, daß nämlich die Hefe eine Pflanze ist, die sich durch Sprossung vermehrt und im Verlaufe ihres Lebens die alkoholische Gärung durchführt. Schwann sah als erster die Sporenbildung. 1841 berichtete Mitscherlich über Versuche, bei denen die alkoholische Gärung in Zuckerlösungen nur dann eintrat, wenn er sie mit Hefe beimpfte.

Der Berliner Professor für Botanik Julius Ferdinand Meyen klassifizierte um dieselbe Zeit die Hefe als Pilz und führte die Gattungsbezeichnung „Zuckerpilz“ = *Saccharomyces* ein (griech. *sakcharos* = Zucker, *mykos* = Pilz).

Gegen diese neuen biologischen Auffassungen von der Gärung ging nun Justus von Liebig „mit der ganzen Wucht seiner Autorität und seiner streitbaren Persönlichkeit an“, wie F. Schmitthenner¹⁾ in seinem schönen Referat „Fünf Jahrzehnte mikrobiologische Forschung im Weinfache“ 1937 schrieb. Schmitthenner zitiert zur Erläuterung der Heftigkeit dieses Kampfes einige Originalstellen aus Veröffentlichungen von Liebig und seinem Freunde F. Wöhler zum Thema „alkoholische Gärung“, die ich hier ebenfalls anführen möchte.

Liebig erklärte die sog. „Hefe“ als vollständig nebensächlich bei der Gärung. Die Biologen hätten irrtümlicherweise den Pflanzenschleim und das Eiweiß, die sich bei der Gärung des Bieres und von Pflanzensäften in Form von Kügelchen ausscheiden würden, für belebte Organismen gehalten. Liebig machte sich regelrecht lustig über die Entdecker der Hefe und verglich deren Meinung „mit der Ansicht eines Kindes, welches den raschen Lauf des Rheines erklärt durch die vielen Mühlen bei Mainz, deren Räder das Wasser mit Gewalt nach Bingen hin bewegen“. Zusammen mit seinem Freund F. Wöhler, der ebenfalls zu den größten Chemikern gerechnet werden darf, ergoß Liebig in den *Annalen der Pharmacie* (1839, Bd. 29, S. 100) unter dem Titel „Das enträtselte Geheimnis der geistigen Gärung“ einen Schwall von Spott und Verhöhnung über die Entdecker der Hefe. Es heißt dort unter anderem:

„Mit Wasser zerteilte Bierhefe löst sich unter diesem Instrumente (gemeint ist sein Mikroskop) auf in unendlich kleine Kügelchen, welche kaum $\frac{1}{800}$ Linie im Durchmesser haben. Bringt man diese Kügelchen in Zuckerwasser, so sieht man, daß sie aus Eiern von Tieren bestehen; sie schwellen an, platzen, und es entwickeln sich daraus kleine Tiere, die sich mit einer unbegreiflichen Schnelligkeit auf die beispielloseste Weise vermehren. Die Form dieser Tiere ist abweichend von jeder der bis jetzt beschriebenen 600 Arten, sie besitzen die Gestalt einer Destillierblase. Die Röhre des Helms ist eine Art Saugrüssel, der inwendig mit $\frac{1}{2000}$ Linie langen Borsten versehen ist: Zähne und Augen sind nicht zu bemerken; man kann übrigens einen Magen, Darmkanal, den Anus als rosenrot gefärbten Punkt, die Organe der Urinsekretion deutlich unterscheiden. Von dem Augenblicke an, wo sie dem Ei entsprungen sind, sieht man, daß diese Tiere den Zucker aus der Auflösung verschlucken; sehr deutlich sieht man ihn in den Magen gelangen. Augenblicklich wird er verdaut, und diese Verdauung ist sogleich und aufs bestimmteste an der erfolgenden Ausleerung von Exkrementen zu erkennen. Mit einem Worte, diese Infusorien fressen Zucker, entleeren aus dem Darmkanal Kohlensäure und aus den Harnorganen Alkohol. Die Urinblase besitzt in gefülltem Zustande die Form einer Champagnerbouteille, im entleerten ist sie ein kleiner Knopf“.

In diesem Tone geht es noch weiter, aber dieser kurze Ausschnitt mag genügen, um zu zeigen, wie der Kampf von Liebig geführt wurde. Es sei nochmals betont, daß diese verletzende Abhandlung in einer hochbedeutenden wissenschaftlichen Zeitschrift gestanden hat. Schmitthenner beschloß seine historische Betrachtung mit folgenden Worten:

„Man sieht: Also auch an der Wiege unserer Gärungswissenschaft stand der Kampf, wie oft im Leben, und nicht zuletzt in der wissenschaftlichen

¹⁾ Wein und Rebe. 19. Jahrg., Heft 3 und 4. 1937.

Forschung, wenn plötzlich neue Erkenntnisse auftauchten, welche die älteren, scheinbar so fest fundierten Theorien über den Haufen warfen“.

Unter dem Einfluß der großen Autorität Liebig's hielt die öffentliche wissenschaftliche Meinung zunächst noch an der nicht-vitalistischen Auffassung der Gärung fest. Die Hefe sollte mit der Gärung nichts zu tun haben, sie stellte sich eben spontan in gärenden Lösungen ein, die Gärung selbst wurde als ein rein chemischer Vorgang betrachtet.

Nun trat aber auf der Bühne der Wissenschaft ein Liebig gleichwertiger Mann und ebenso streitbarer Charakter auf, dies war Louis Pasteur. Obwohl von Hause aus Chemiker, trat er mit allem Nachdruck und mit dem Temperament eines Franzosen für die biologische Auffassung der Gärung ein.

Pasteurs erste Publikation auf diesem Gebiet behandelte die Milchsäuregärung. Dies kam daher, daß der Vater eines aus der Gegend von Lille stammenden Schülers ihn zu untersuchen bat, warum sich in einer Getreidebrennmaishe anstatt Alkohol Milchsäure bildete. Dabei entdeckte Pasteur, daß Bakterien aus Zucker Milchsäure zu bilden vermögen, so wie die Hefe aus Zucker Alkohol. So studierte er gleichzeitig die Hefe und die alkoholische Gärung und im gleichen Jahr, in dem seine bahnbrechende Arbeit über Milchsäuregärung erschien (1858), entfachte er mit einer Arbeit über die alkoholische Gärung von neuem den Streit über Wesen und Ursache der alkoholischen Gärung, der so heftig entbrannte wie nie zuvor, der aber 18 Jahre mit zäher Ausdauer geführt, mit dem glänzenden Siege Pasteurs endete. Die öffentliche wissenschaftliche Meinung, mit ihr sein großer Kontrahent Liebig, gab sich erst mit Pasteurs berühmten: „*Etudes sur la bière*“ (1876) geschlagen.

Pasteur arbeitete nicht nur allgemein über die alkoholische Gärung, sondern beschäftigte sich ab 1863, auf eine Aufforderung des damaligen französischen Kaisers mit dem für die französische Nationalökonomie so wichtigen Wein. Bereits 1865 legte Pasteur dem französischen Kaiser ein Manuskript vor, betitelt „*Etudes sur le vin. Les maladies; causes qui les provoquent. Procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir.*“ Binnen 2 Jahren war dieses Werk, das 1866 in erster Auflage erschien, vergriffen. Dieses Werk über den Wein war allein schon eine unsterbliche Leistung. Es wurden darin sogar eine ganze Reihe farbiger Abbildungen von Bakterien, Hefen und chemischen Ausfällungen im Wein gebracht. Darüber hinaus enthält dieses Werk Bilder und Beschreibungen origineller, von Pasteur selbst erdachter oder angeregter Apparate für die praktische Weinkellerwirtschaft zum Erhitzen des Weines zwecks Erzielung eines Sterilisationseffektes. Diese Methode, seither als „Pasteurisieren“ bezeichnet, bedeutete für die französische Rotweinerzeugung einen großen Fortschritt.

Die grundlegenden und umfangreichen wissenschaftlichen Arbeiten Pasteurs hatten mehr ihre Auswirkung in der Wissenschaft gefunden. Auf die Praxis der Gärungsgewerbe hatten seine Arbeiten mit Ausnahme der Pasteurisation der Rotweine keinen umwälzenden Einfluß ausgeübt. Nach wie vor traten vor allem in den Bierbrauereien riesige Verluste durch Fehlgärungen und Bierkrankheiten ein. Kurzum, die wissenschaftlich so erfolgreiche Epoche Pasteurs hat keinen umwälzenden Einfluß auf das praktische Gärungsgewerbe ausgeübt.

Dieses zu erreichen, war erst dem dänischen Botaniker Christian Emil Hansen beschieden. Mit seinem Namen ist der Anbruch einer ganz neuen

Ära der Biologie der Hefe und eine grundlegende Reform der Gärungstechnik verbunden. Alle seine Vorgänger, auch der berühmte Pasteur, hatten nicht mit Reinkulturen gearbeitet. Hansen arbeitete ein Verfahren zur Gewinnung von Reinkulturen aus einer einzigen Hefezelle aus und studierte die physiologischen Eigenschaften der so gewonnenen reinen Hefestämme. Dabei erkannte er, daß zwischen Hefe und Hefe große Unterschiede bestehen, daß es Hefen gibt, welche für das Bier genau so schädlich sind wie Bakterien, ja daß sogar die Rassen ein und derselben Art sich physiologisch ganz verschieden verhalten können. Er fand alsbald die Rassen, welche die besten Bierqualitäten lieferten. Wie es mit allen Neuerungen geht, so beschworen zunächst Hansens Reformgedanken, aufgebaut auf dem Reinzuchtsystem, eine sturm bewegte Zeit und lebhafte Kämpfe herauf, da nicht bloß Brauereipraktiker, sondern auch hervorragende Theoretiker der Einführung reingezüchteter Hefen sehr skeptisch und mit Vorurteilen aller Art gegenüberstanden. Es ist ein großes Verdienst der Brauereiakademie in Weihenstephan und der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München, daß beide als erste Hansens Reinzuchtsystem praktisch erprobten, daß sie dafür eintraten und so dem neuen System zum Siege verhalfen.

Es ist hier nicht der Ort, den ganzen Werdegang der Reform des Bierbrauereiwesens durch die wissenschaftlichen Arbeiten Hansens klarzulegen. Zusammenfassend kann aber gesagt werden, daß es erst durch diese Arbeiten möglich wurde, Biertypen von ständig gleichbleibender Qualität zu brauen und daß von da ab die Bierbrauerei sich zu einer „Brauindustrie“ entwickeln konnte.

Hansens epochemachende Arbeiten blieben auch nicht ohne Einfluß auf die Weinbereitung. Mit weitschauendem Blick erkannten Müller-Thurgau und Julius Wortmann, die ersten Vorsteher der Pflanzenphysiologischen Versuchsstation der damaligen Kgl. Lehr- und Forschungsanstalt in Geisenheim am Rhein, daß das Reinzuchtverfahren Hansens auch für die Weinbereitung von Bedeutung sein müsse.

Müller-Thurgau studierte in den Jahren 1880—1890 planmäßig die Weingärung. Er wies nach, daß ursprünglich beim Angären des Traubenmostes die zugespitzten Hefen zahlenmäßig den echten Weinhefen überlegen sind und letztere erst später die Oberhand bekommen. Er schlug zuerst vor, einige Tage vor der eigentlichen Lese reife Trauben zu maischen, um die echten Weinhefen zu vermehren und diese gärende Maische den zu kelternden Trauben zuzusetzen. So wurden dem Traubenmost echte Weinhefen in solcher Zahl zugesetzt, daß die Gärung flotter vonstatten ging. Bereits 1890, auf dem Weinbaukongreß in Worms, teilte er Versuche mit einer von ihm reingezüchteten Weinhefe mit und entwickelte ein Programm über die Gewinnung weiterer, für die Weingärung geeigneter Heferassen. Außerdem sprach er als erster damals die Ansicht aus, daß der bei unseren Weinen nach der alkoholischen Gärung eintretende Säureabbau durch Bakterien verursacht ist. Es ist hier nicht der Platz, alle Verdienste Müller-Thurgaus um die Erforschung und Verbesserung der Weingärung aufzuzählen.

War Pasteur der große temperamentvolle Pionier, der als erster in das bis dahin praktisch unerforschte Gebiet der Gärung vorstieß, so war Müller-Thurgau der erste Botaniker, der planmäßig und systematisch in das Neu-land der speziellen Mikrobiologie der Weinbereitung eindrang und in vorbild-

lich exakter Kleinarbeit die Weinkellerwirtschaft wissenschaftlich untermauerte. Seine Arbeitsweise kann heute noch als Vorbild dienen, und seine wissenschaftlichen Arbeiten sind heute noch grundlegend und maßgebend.

Julius Wortmann setzte die Arbeit Müller-Thurgaus fort, gründete 1894 die erste Weinhefe-Reinzuchtstation Deutschlands in Geisenheim und trat überall für die Anwendung „reiner“ Hefen in der Weinbereitung ein. Weiterhin wurden von ihm die Nachtrübungen fertiger Weine, das Bitterwerden der Rotweine und von seinem damaligen Mitarbeiter R. Meissner eine Reihe anderer Krankheiten und Fehler des Weines wissenschaftlich untersucht. Man kann ruhig sagen, daß Müller-Thurgau, Wortmann, Aderhold und Meißner in der Zeitspanne 1875—1900 von der biologischen Seite her den größten Teil der wissenschaftlichen Grundlagen der neuzeitlichen Weinbereitung geschaffen haben.

Kurz vor der Jahrhundertwende kam mit Eduard Buchners Nachweis des Enzymkomplexes Zymase und der Möglichkeit einer zellfreien Gärung der alte Streit um Wesen und Ursache der alkoholischen Gärung zu seinem endgültigen Abschluß. Schon 1858 hatte der deutsche Chemiker M. Traube einen Kompromiß zwischen der rein chemischen und rein vitalistischen Auffassung der Gärung vorgeschlagen und die Möglichkeit erwogen, daß die Gärungsorganismen mit Hilfe von in Lösung gehenden „Fermenten“ die Umwandlung des Zuckers bewirken. Der tatsächliche Nachweis von solchen „Fermenten“ gelang erstmalig Emil Fischer 1895. Er isolierte als erstes Ferment die Invertase. Zusammen mit Thierfelder isolierte er später noch Melibiase, Maltase und Lactase. 1897 berichtete sodann Eduard Buchner über eine gelungene Isolierung der Zymase aus Hefemazerat. Damit waren beide Richtungen, die rein chemische und vitalistische, miteinander versöhnt. Im Prinzip hatten beide Richtungen recht bekommen. Die vitalistische Auffassung hatte von Anfang an recht, die chemische bekam erst von Buchners Arbeit an ihre Berechtigung.

Um die Jahrhundertwende setzte auf breiter Basis das geistige Ringen um das Erkennen der wahren Ursachen des für die nördlichen Weinbaugebiete so wichtigen Säurerückganges ein. Zwar hatte schon 1890 Müller-Thurgau¹⁾ zum ersten Male vorsichtig geäußert, daß er diesen Säureschwund für eine mikrobiologische, und zwar bakterielle Angelegenheit hielte. Aber erst 1897 wurden auf dem Weinbaukongreß in Freiburg/Breisgau von Alfred Koch experimentelle Unterlagen als Stützen für die Müller-Thurgausche Auffassung vorgebracht. Alfred Koch gelangen als erstem Kultivierungsversuche der Säureabbau Bakterien in Most und Wein. 1900 legte auf dem Weinbaukongreß in Colmar Alfred Koch in einem Vortrag „Über die Ursachen des Verschwindens der Säure bei der Gärung und Lagerung der Weine“ neues experimentell erarbeitetes Beobachtungsmaterial vor, das keine Zweifel mehr aufkommen ließ, daß der Säureabbau eine biologische Angelegenheit ist. Von da ab spricht man auch in der Kellereipraxis vom „biologischen Säureabbau“.

Diese Erkenntnisse wurden 1901 und 1903 durch Veröffentlichungen des österreichischen Oenologen W. Seifert²⁾ noch vertieft und erweitert. Ihre

¹⁾ Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiet der Weinbereitung. XII. Deutscher Weinbaukongreß Worms, September 1890.

²⁾ Über die Säureabnahme im Wein und den dabei stattfindenden Gärungsprozeß. Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Österreich 1901 und 1903.

Krönung fand dieses Kapitel der Weinmikrobiologie durch die klassisch zu nennenden Veröffentlichungen von Müller-Thurgau und Osterwalder¹⁾ in den Jahren 1913 und 1918. In letzterer, die den Titel trägt „Die Bakterien im Wein und Obstwein und die dadurch verursachten Veränderungen“, fanden auch die Erscheinungen des Zäh- oder Lindwerdens, des Milchsäurestichs, der Mannitbildung und des Mäuselns, des Weinsäure- und Glycerinschwundes erstmalig eine zusammenfassende, biochemisch fundierte Bearbeitung.

Das Hauptgebäude der speziellen Mikrobiologie war um diese Zeit im Rohbau fertig. Es folgte nun der Ausbau einzelner Stockwerke und Abteilungen. So bearbeitete K. Kroemer²⁾ die Erscheinung, daß sogar in überschwefelten Weinen und Mosten noch gärende Hefen auftreten, was auch schon Mensio, Baragiola und Godet aufgefallen war, und brachte darüber 1922 eine Studie „Über eine in überschwefelten Mosten auftretende Hefe der Gattung *Saccharomycodes*“. Weiterhin studierte Kroemer mit Krumbholz³⁾ die Hefeflora der Rheingauer Trockenbeerenauslesen, die sich wegen der hohen osmotischen Werte, welche hier die Hefen zu überwinden haben „osmophile Hefen“ nannten.

In die Zeit des 1. Weltkrieges fällt die Erfindung des Entkeimungsfilters durch Schmittthenner. Diese war sozusagen bereits eine Frucht der bis dahin erarbeiteten Einblicke in die Mikrobiologie des Mostes und Weines und zugleich eine praktische Schlußfolgerung daraus. Zwar hatte die Schmittthennersche Erfindung keinen direkten Einfluß auf den Gang der Forschung, dafür aber eine ungeheure Wirkung auf die Praxis. Sie wurde zur Grundlage eines neuen, nun bereits unentbehrlich gewordenen Seitenzweiges der Weinwirtschaft, nämlich der Süßmosterei großen Stiles.

Durch das EK-Filter war es erst möglich, großen Mengen Mostes oder Weines die gesamte Kleinlebewelt zu entziehen.

1933 begann in der eigentlichen Hefebiologie eine neue Epoche, die wir die „Epoche der Jerezhfen“ nennen können. Sie wurde literarisch eröffnet von zwei russischen Forschern, welche über das Vorkommen von hochgäringen, nach der alkoholischen Gärung auf dem Wein Häute bildenden Hefen vom Typ der Jerezhfen in Armenien berichteten. 1936 bestätigte H. Schanderl⁴⁾ die Angaben der armenischen Oenologen, Prostosserdow und Afrikian⁵⁾ bestritt aber das Recht, nun eine neue Art „*cheresensis*“ der Gattung *Saccharomyces* aufzustellen, wie es obige Autoren vorgeschlagen hatten, indem er nachwies, daß die Haut-, Insel- oder Ringbildung nach der alkoholischen Gärung eine allgemein biologische Erscheinung im Lebenslauf aller Weinheferassen ist, sofern nur Luft zur Weinoberfläche Zutritt hat. Das Hautstadium

¹⁾ Centralblatt für Bakteriologie Abt. II. Bd. 36, S. 129—339, 1913, und Bd. 48 S. 1—35, 1918.

²⁾ Geisenheimer Jahresberichte 1912, 1913, sowie Festschrift zum 50-jährigen Jubiläum der höheren staatl. Lehranstalt f. Wein-, Obst- und Gartenbau Geisenheim a. Rhein 1922.

³⁾ Kroemer, K. und Krumbholz, G. Untersuchungen über osmophile Spößpilze I—V. Archiv für Mikrobiologie Bd. 2 1931 und Bd. 3 1932.

⁴⁾ Schanderl, H.: Untersuchungen über sogenannte Jerez-Hefen. Wein und Rebe Bd. 18, S. 16—25, 1936.

⁵⁾ Prostosserdow, N. N. and Afrikian, R. Jerezwein in Armenien. Das Weinland Bd. 5, H. 12, S. 389—91, 1933.

Prostosserdow, N. N. Zur Geschichte des Studiums der Solera-Mikroorganismen. Das Weinland Bd. 6, H. 3, S. 72—73, 1934.

wäre ein normales Stadium im Lebenskreislauf der Weinhefe, und er schlug, um die Rolle des Luftsauerstoffs hervorzuheben, die Bezeichnung „oxydatives Stadium“ vor, die sich in kurzer Zeit in dem internationalen oenologischen Wortschatz einbürgerte.

Im klassischen Land des Original-Sherryweines, in Spanien, waren zur selben Zeit wesentlich umfangreichere Arbeiten über die Jerezhefen durchgeführt worden als von Prostosserdow und Afrikian in Armenien und von H. Schanderl in Geisenheim a. Rhein. Die spanischen Arbeiten, welche von Juan Marcilla, Genaro Alas und E. Feduchy¹⁾ durchgeführt worden waren, lagen während der Wirren des damaligen spanischen Bürgerkrieges fertig gedruckt vom September 1936 bis Mai 1939 in einer Druckerei in Madrid und gelangten erst nach dem Siege Francos im Laufe der zweiten Hälfte von 1939 an die Öffentlichkeit. Inzwischen war das Jerezhefeproblem 1936 und 1938 von Cruess und seinen Mitarbeitern²⁾ in Kalifornien und Niehaus³⁾ in Südafrika aufgegriffen und praktische Aromatisierungsversuche durchgeführt worden.

Das Jerezhefeproblem ist ein wunderschönes Beispiel dafür, wie rein theoretische Arbeiten zu weltweiten praktischen Konsequenzen führen können. Eine rein handwerklich und empirisch ermittelte uralte Weinbehandlung wurde wissenschaftlich aufgeklärt, und durch diese Aufklärung bekam die Kellerpraxis erst sichere Handhaben, um dieselben Aromastoffe überall dort zu erzeugen, wo man solche wünscht. Die Epoche der Jerezhefen bereicherte die Biologie der Hefen, die Biochemie des Weines und die Technologie um wesentliche, neue Einblicke, Erkenntnisse und Praktiken.

1938 kam eine 50 Jahre alte Streitfrage zum Abschluß und zur restlosen Aufklärung. Es war dies die Streitfrage, ob die sog. „Apiculatushefen“ echte, sporenbildende Hefen wären oder nicht. Sie wurde von Niehaus⁴⁾ und Dvornik⁵⁾ dahingehend entschieden, daß diese Hefen echte, sporulierende Hefen und unbedingt in die Familie der *Saccharomycetaceae* einzureihen sind. 1939 wurde von Baltatu⁶⁾ eindeutige mikrophotographische Beweise vorgelegt, daß auch die Gattung *Mycoderma*, welche bis dahin ganz zu Unrecht als „unechte“, nichtsporulierende Hefe angesehen wurde, Sporen bildet und daher in die Familie der *Saccharomycetaceae* eingereiht werden muß.

In der Zeitspanne von 1935—1940 fallen die für die Biologie, Systematik und Genetik der Hefen so ungemein wertvollen Arbeiten der Dänen

¹⁾ Marcilla, Juan, Genaro Alas, and Enrique Feduchy. Contribution al estudio de las levaduras que forman velo sobre ciertos vinos de elevado grado alcoholico. An. del Centro de Invest. Vinicolas. Bd. 1, S. 1—230, Madrid 1936.

²⁾ Cruess, W. V. and A. Podgorny. Destruction of volatile acidity of wine by film yeast. Fruit Prod. Jour. Bd. 17, H. 1, S. 4—6, 1937.

Cruess, W. V., Weast, C. A., and Gililand, R. Summary of practical investigations on film yeast. Bd. 17, S. 299—31, 251, 1938.

³⁾ Niehaus, C. J. G. South African sherries. Farming in So. Africa. Bd. 12, S. 82, 85, 1937.

⁴⁾ Niehaus, C. J. G.: Untersuchungen über Apiculatushefen. Zbl. Bakter. usw., Abt. II Bd. 87, S. 97—150, 1932—33.

⁵⁾ Dvornik, R. Über die Sporulation der Apiculatushefen. Zbl. Bakter. usw., Abt. II Bd. 98, S. 315—344, 1938.

⁶⁾ Baltatu, E.: *Mycoderma* als echte *Saccharomyceten*. Zbl. Bakter. usw. Abt. II Bd. 101, S. 196—225, 1939.

O. Winge¹⁾ und O. Laustsen²⁾. Schon 1902 hatte der große französische Mikrobiologe Guilliermond bei der Hefegattung *Schizosaccharomyces* das Vorkommen echter Sexualitätserscheinungen nachgewiesen. Für die Gattung *Saccharomyces* hatten Kruis und Satava 1918 Kopulations- und Sexualitätserscheinungen nachgewiesen. Da aber diese Publikation in tschechischer Sprache erschien, ist sie bis zum Jahre 1937 unbekannt geblieben. Erst durch Winge und Laustsen, denen ebenfalls bis dahin die Arbeit von Kruis und Satava unbekannt war, sind die Ergebnisse der tschechischen Autoren allgemein bekannt geworden.

Die Arbeiten von Guilliermond, Kruis und Satava, Winge und Laustsen brachten uns einerseits neue Einblicke in den Lebenszyklus (life-cycle), d. h. den Wechsel von Haplophase und Diplophase der Hefen, andererseits zeigten uns die dänischen Autoren, wie echte „Züchtung“ von neuen Heferassen möglich ist. Winge und Laustsen stellten die ersten Hefehybriden durch Menschenhand her und studierten an den Hybriden erstmalig Vererbungsverhältnisse bei Hefen. Weiterhin wiesen sie auf die Rolle der Chondriosomen bei der Sporulation hin und schufen die Bezeichnung „Chondriokinesis“. Mit diesen Arbeiten hat das durch die klassischen Arbeiten von Christian Emil Hansen berühmt gewordene Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen der Wissenschaft der Hefe einen ähnlich mächtigen Antrieb gegeben wie seinerzeit Emil Hansen mit seiner Reinzuchtmethode.

Das Jahrzehnt vor dem 2. Weltkrieg war in jeder Hinsicht wissenschaftlich außerordentlich fruchtbar. Nicht allein die Biologie der Hefen kam voran, sondern auch die Biochemie der Hefe. Als ein ganz großer Triumph der Wissenschaft darf gelten, daß es gelungen ist, den ungefähren Ablauf der chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung der Hefe bis in kleine Details hinein aufzuklären. Diese Einblicke, gewonnen durch wahre Meisterstücke und geradezu künstlerisch verfeinerte mikrochemische Arbeitsmethoden, sind im sog. „Schema der alkoholischen Gärung“ zusammengefaßt. An der Erarbeitung dieses Schemas waren eine ganze Reihe von Biochemikern beteiligt, unter anderen Neuberg, Harden-Young, O. Warburg, W. Christian, O. Meyerhof³⁾, W. Kiessling, W. Schulz u. a. Ebenso gewaltige Fortschritte hatte die Enzym- und Vitaminchemie über die Hefen und Bakterien gebracht. Es stellt sich immer mehr heraus, daß die Hefe in bezug auf Vitaminsynthesen eine unerreicht leistungsfähige Pflanze ist.

Die Folge war, daß die Hefe immer mehr in das Blickfeld und das Interesse der Hygieniker, Ärzte und Gesundheitsbehörden rückte. Aber auch den Weinmikrobiologen begann nun die Hefe als Vitaminlieferantin zu interessieren. Es wurden daher auch die Veränderungen des Vitamin B₁-Gehaltes

1) Winge, O. On haplophase and diplophase in some *Saccharomyces*. C. r. Trav. Labor. Carlsberg (Dän.) Bd. 21, S. 77—112, 1935.

2) Winge, Oe. and Laustsen, O. On two types of spore germination and on genetic segregations in *Saccharomyces*, demonstrated through single spore cultures. Ebenda Bd. 22, S. 99—117, 1937.

Winge, Oe. and Laustsen. Artificial species hybridization in yeast. Ebenda Bd. 22, S. 235—244, 1938.

3) Meyerhof, O., Kiessling, W. und Schulz, W. Über die Reaktionsgleichungen der alkoholischen Gärung. Biochemische Ztschr. Bd. 292, S. 25—67, 1937.

des Substrates bei der Weingärung und der Vitamin B₁-Gehalt der Weinhefen studiert. Bei der erstaunlichen chemischen Leistungsfähigkeit der Hefe ist es an sich kein Wunder, daß sie unter bestimmten Bedingungen sogar fähig ist, den Luftstickstoff in ihren Haushalt mit einzubeziehen, wie von Schanderl¹⁾ und Frei²⁾ 1942 gefunden und von Marcilla und Mitarbeitern bestätigt wurde.

Aus diesem kurzen historischen Überblick ist bereits ersichtlich, welch ungeheuren Aufschwung die Mikrobiologie im allgemeinen in den letzten 50 Jahren erlebte, von dem die spezielle Mikrobiologie der Weinbereitung ebenfalls stark berührt wurde. Nun ist diese Wissenschaft aber noch dauernd im Fluß, und es sind von ihr noch viele Überraschungen zu erwarten.

Zur Zeit befindet sich die Mikrobiologie selbst in einem „gärenden“ Stadium und debattiert lebhaft über die Grundstreitfrage, welche der Verfasser erneut aufgeworfen hat, ob nämlich das Innere der Pflanzen bzw. der Zelle keimfrei ist oder nicht. Der Verfasser hat 1947 in seinem Buch: „Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen — auf neuer Grundlage“³⁾ Beobachtungs- und Beweismaterial dafür gebracht, das die bisherige Lehrmeinung von der unbedingten Sterilität der Pflanzen- und Tierzelle aufs schwerste erschüttert. Alle bisherigen Beobachtungen sprechen vielmehr dafür, daß die Zelle selbst nicht der kleinste Baustein der Großorganismen, sondern selbst ein Symbiosephänomen ist.

Diese Grunderkenntnis hat auch ihre Auswirkungen auf die spezielle Mikrobiologie der Weinbereitung. Sie berührt nämlich die Frage der Herkunft der im Wein sich einstellenden erwünschten Bakterien. Bisher war man der Meinung, daß sie nur durch Infektion, Schmutz, Erdteilchen etc. in die Moste bzw. Weine gelangen würden. Indessen lassen meine Beobachtungen den Schluß zu, daß die Zellen des Beerenfleisches der Trauben unzählige entwicklungsfähige Keime enthalten, die sich schnell oder langsam im Wein entwickeln, je nachdem dessen Säureverhältnisse sind. Ja, die Hefezellen und die Hyphen der Pilze enthalten geformte, unter Umständen zu selbständigem Leben außerhalb dieser Zellen befähigte Gebilde, welche ebenfalls in den Wein austreten können.

Wir leben also in einer „großen Wachstumsperiode“ der Mikrobiologie, die bestimmt auch ihre Auswirkungen auf die Technologie der Weinbereitung hat, genau so, wie sich die Epoche Pasteur — Emil Hansen — Müller-Thurgau auf die Kellertechnik ausgewirkt hat.

Um die Errungenschaften der Wissenschaft praktisch zu nutzen, muß man allerdings zunächst von ihnen selbst Kenntnis haben. Diese dem theoretischen und praktischen Oenologen zu vermitteln, ist die Aufgabe dieses Buches.

¹⁾ Schanderl, H. Über die Assimilation des elementaren Stickstoffs der Luft durch hautbildende Hefen und durch *Cladosporium cellare*. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II Bd. 101, S. 401—408, 1940.

²⁾ Frei, H. Quantitative Untersuchungen über die Assimilation elementaren Stickstoffs der Luft durch hautbildende Hefen. Ebenda, Bd. 104, S. 326 bis 365, 1942.

³⁾ Verlag Eugen Ulmer, Ludwigsburg 1947.

II. Die Mikroflora der Obstfrüchte, Moste und Weine

A. Die Zuckerpilze oder Hefen

Während vor hundert Jahren selbst die größten Gelehrten über Ursache und Wesen der sog. Gärungen sich noch nicht einig waren, weiß heute der einfachste Winzer, daß mikroskopisch kleine Pflanzen aus dem Reich der Pilze die Erreger der Gärungen sind. Unklare und unrichtige Vorstellungen findet man lediglich noch über die Frage, woher diese Mikroben stammen, wie sie in die gekelterten Säfte gelangen. Vielfach findet man noch die irrige Ansicht verbreitet, daß die Erreger der sog. Spontangärung, d. h. der sich von selbst einstellenden Gärung, aus der Luft während der Aufbereitung, des Mahlens und Kelterns in die Maische und in die Säfte gelangten.

Die Ansicht ist irrig. Die Hauptmasse der Gärungserreger sitzt bereits auf den reifen Früchten, und zwar um so mehr, je reifer die Früchte sind und je näher sie der Erdoberfläche waren.

Schon 1889 hat Müller-Thurgau mit folgendem eindeutigen Versuch demonstriert, daß die wichtigsten Gärungserreger des Traubenmostes, die Hefen, nicht aus der Luft in den Most gelangen. Er stellte zur Lesezeit 50 Glasgefäße, die er vorher mit Traubenmost angefüllt, mit einem Wattebausch verschlossen, mit Hitzeeinwirkung sterilisiert hatte, offen eine halbe Stunde lang im Freien und in allen möglichen Räumen des Kellereigebäudes der Geisenheimer Lehr- und Forschungsanstalt aus. Von den 50 offenen Mostproben kam nur eine einzige in Gärung. Diese war im Kelterhaus aufgestellt gewesen. Darin hatte sich wohl eine Hefe, aber eine gärschwache aus der Gruppe der *Apiculatushefen* eingestellt. In 40 Gefäßen, also in 80% der Versuche, hatten sich Schimmelpilze, besonders häufig *Penicillium glaucum* und *Botrytis cinerea* eingestellt. Einige Gefäße blieben überhaupt steril und in einigen wenigen ließen sich nachher Bakterien nachweisen. Diesen Versuch hat Müller-Thurgau in verschiedenen Jahren wiederholt. Das Ergebnis war mehr oder weniger immer das gleiche. Im Herbst nahmen die Infektionen mit Hefe im Freien und im Kelterhause begreiflicherweise zu. Müller-Thurgau wollte schon damals den Weinbaubeflissenen und Weinbaustudenten ad oculos demonstrieren, daß sich Weinhefe nur selten und in absolut ungenügender Menge in der Luft vorfindet.

Auch wenn wir heute nach 60 Jahren diesen Versuch Müller-Thurgaus wiederholen, fällt er im Prinzip gleich aus. Ausnahmen können natürlich vorkommen. Während die Sporen der Schimmelpilze ihrer Entstehung und ihrem Bau nach für die Verbreitung durch die Luft bzw. durch bewegte Luft sehr geeignet sind, ist der Träger von in Luft auffindbarer Hefe nicht die Luft an sich, sondern Staub- und Erdpartikelchen, in denen eingetrocknete Hefezellen oder Hefesporien eingeschlossen sind.

Wie gelangen die Gärungserreger auf die Traubenbeeren und andere Früchte?

Die Luft transportiert, wie wir gehört haben, wohl mit Leichtigkeit Schimmelpilzsporen, in Staubteilen auch dann und wann Hefen, aber in den seltensten Fällen ausreichende Mengen der eigentlichen Gärungserreger.

¹⁾ Müller-Thurgau, H. Neue Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Weinbereitung und deren Bedeutung für die Praxis. Bericht über die Verhandlungen des XI. Deutschen Weinbau-Congresses in Trier im September 1889, S. 80—100.

Es müssen sich also in der Natur noch andere Vorgänge abspielen, sonst könnten gekelterte Fruchtsäfte unmöglich so prompt in Gärung geraten. Über diese Grundfragen hat wiederum Müller-Thurgau bereits in seiner Geisenheimer Zeit Untersuchungen angestellt. Tabelle 1 gibt uns sogleich die Fingerzeige für die Hauptquellen der Gärungserreger. So fand Müller-Thurgau auf verletzten und aufgesprungenen Traubenbeeren fast 40mal so viel Hefen als auf unverletzten. Auf einer einzigen aufgesprungenen Traubenbeere stellte er 8 Millionen Hefekeime fest! Platzt also eine Traubenbeere, so vermehren sich darin sofort die durch Staub oder von zuckernaschenden Insekten übertragenen Hefekeime. Ein derartiger Tropfen austretenden Saftes wirkt wie eine Stammkultur, von der aus vor allem durch Wespen und andere Insekten ähnliche Fälle infiziert werden. Die zuckernaschenden Insekten werden buchstäblich zu „Infektoren“. Hierin liegen die Gründe für die immer wieder zu beobachtende Tatsache, daß das Traubenlesegut und Früchte überhaupt um so länger ohne Gärungserscheinungen bleiben, je weniger sie verletzt sind — und umgekehrt, daß sie um so schneller in Gärung geraten, je größer der Anteil verletzter Früchte war.

Weiterhin zeigen die in Tabelle 1 wiedergegebenen Zahlenbefunde Müller-Thurgaus, daß auf den Beeren von tiefhängenden Trauben fast 5 mal mehr Hefen vorhanden waren als auf den Beeren höher hängender Trauben. Damit ist ein weiterer Überträger von Gärungserregern aufgezeigt, das sind nämlich die Regenspritzer. Wir können an den sog. „Erdtrauben“, je nach vorangegangener Witterung, die vom Erdboden zurückgeprallten, schmutzbeladenen Regenspritzer deutlich abgezeichnet sehen.

Dieser Umstand ist schuld, daß die Erdtrauben in unserem Klima viel früher in Gärung und Fäulnis geraten und daher von den Winzern auch viel früher gelesen werden müssen, wenn sie ihnen nicht verloren gehen sollen.

Wir haben bisher das Hauptaugenmerk auf die eigentlichen Gärungserreger gelegt. Wie aber Tabelle 1 zeigt, bevölkern die Beerenoberfläche nicht allein Hefen, sondern noch zahlreiche andere Mikroben. Der zahlenmäßige

Tab. 1. Auf je 100 Traubenbeeren finden sich Keime in Millionen nach Müller-Thurgau:

	Hefe und hefeähnliche Pilze	Dematium pullulans	Roter Sproßpilz (Torula ?)	Schimmel- und andere Fadenpilze
Gesunde Beeren . . .	22,12	1,23	0,10	2,18
Aufgesprung. Beeren	807,50	60,00	7,50	65,00
Kämme von 100 Beeren der gesunden Trauben	34,98	2,36	0,36	2,04
Hochhäng. Trauben	29,55	5,52	1,64	5,29
Tiefhäng. „	143,20	10,67	4,00	30,40

Tab. 2. Keimgehalt eines Obstsaftes nach Kroemer

In 1 cem frisch gekelertem Saft wurden nachgewiesen:

Obstsorte	Sproßpilze	Rosahefen	Bakterien	Sporen und Schimmelpilze
Gesunde Äpfel . . .	160 000	3 000	10 000	13 000
Überreife teigige Birnen.	5 380 000	500	750 000	10 000

Anteil dieser oder jener Mikrobe schwankt in unseren Breiten sehr stark und ist sehr von der Jahreswitterung abhängig.

So können in manchen Jahren die Traubenbeeren stellenweise schwarz erscheinen. Dann hat der Rußtaupilz *Dematium pullulans* ganze Rasen von Dauerorganen auf der Beerenhaut gebildet. In anderen Jahren fand der Edel- faulepilz *Botrytis cinerea* sehr günstige Wachstumsbedingungen, drang in die Beerenhaut ein und sandte an die Oberfläche eine ungeheure Zahl von Sporangien-trägern. In anderen Jahren wiederum kann es vorkommen, daß auf verletzten Beeren der von Hefen erzeugte Alkohol Essigbakterien als Nahrungssubstrat dient und diese vom Winzer mit Recht sehr ungern gesehenen Bakterien in riesiger Zahl die Traubenbeeren bevölkern.

Je nach diesen Verhältnissen ist auch der Keimgehalt der Trauben- und Obstmoste ein verschiedener. Welche Zahlen an Keimen hier gefunden werden können, zeigt Tabelle 2.

Wir müssen von biologischen Gesichtspunkten aus zwei Kreisläufe der Gärungspilze unterscheiden, nämlich

1. den natürlichen, nicht vom Menschen beeinflußten, im Weinberg oder im Obstgarten sich abspielenden Kreislauf,
2. den vom Menschen dadurch verursachten Kreislauf, daß er die Trauben oder das Obst keltert.

Dieser Kreislauf ist biologisch betrachtet nicht natürlich, er ist ein künstlicher. Wir können ihn zum Unterschied vom ersteren „Kellerkreislauf“ nennen: denn die Mikroben werden von ihrem natürlichen Standort entfernt und mit dem gekelerten Most in den Keller, in die Weinfässer gebracht.

Der Weinhersteller ist natürlich mehr am zweiten Kreislauf interessiert, und wir werden uns fast das ganze Buch hindurch nur mit ihm beschäftigen. Der Biologe jedoch interessiert sich nicht nur für den künstlichen „Kellerkreislauf“, sondern auch für den natürlichen Ablauf des Lebenskreislaufes der an der Weinbereitung beteiligten Mikroben.

Selbst bei sorgfältigster Vorlese und Hauptlese bleiben immer noch einzelne Trauben im Weinberg. In manchen Gegenden mit starker Starenplage gelangen durch diese Vögel, welche mehr Traubenbeeren zum Abfallen bringen als sie selbst fressen, viele Traubenbeeren auf den Boden. Andere Traubenbeeren, angepickt von Vögeln oder angenagt von Wespen, laufen aus und ihr Inhalt gelangt auf den Erdboden.

Diese Beeren, bzw. deren Zuckersaft, werden zum Vermehrungssubstrat der „Zuckerpilze“, wie die Hefen auch genannt werden. Böden, auf denen öfters oder regelmäßig Zucker anfällt, also im Weinberg, im Obstgarten, auf

dem Erdbeerfeld, beherbergen in größerer Anzahl als andere, gewöhnliche Ackerböden in ihrer Mikroflora „Zuckerpilze“.

So enthalten die obersten Bodenschichten aller unserer Weinberge, wie schon Müller-Thurgau¹⁾ in seiner Geisenheimer Zeit feststellte, Hefen, und zwar nicht nur sog. wilde Hefen der Apiculatusgruppe, sondern auch echte Hefen der Gattung *Saccharomyces*. In heißen, trockenen Sommern gehen viele in den allerobersten Bodenschichten durch Austrocknung zugrunde. Sie befinden sich in 20—30 cm Tiefe am besten geschützt. Tiefer als 40 cm fand Müller-Thurgau keine echte Weinhefe mehr.

Im Weinbauschrifttum ist des öfteren der Hinweis zu finden, daß bei der Neuanlage von Weinbergen in Gegenden, wo bisher nie Reben oder andere zuckerhaltige Früchte angebaut wurden, in der ersten Zeit die Moste schwer, schleppend oder in Einzelfällen überhaupt nicht in Gärung kamen. So soll dies vor 120 Jahren die erste Zeit in Neuanlagen Australiens der Fall gewesen sein. In den Böden von derartigen Neuanlagen stellten sich erst im Laufe der Jahre in zunehmendem Maße Hefen als Bodenpflanzen ein. Umgekehrt sind diese Zuckerpilze bei der Aufgabe eines Rebenanbaugebietes zum Verhungern und Aussterben verurteilt, sofern nicht andere zuckerliefernde Pflanzen an Stelle der Reben gebaut werden.

Als man im vorigen Jahrhundert in die Biologie der Hefe Einblick gewann, wurden auch Stimmen laut, man dürfe auch die Hefeflora im Weinberg nicht vernachlässigen und solle sorgen, daß sie jährlich mit Hefen neu angereichert werde. Man empfahl, das Hefegeläger der Weine oder wenigstens einen Teil davon in die Weinberge zurückzugeben.

Eine solche Maßnahme halte ich für überflüssig und wenig wirksam; denn die Hefezellen eines ausgegorenen Weines sind in der Regel zu 99 % tot oder sogar schon in Auflösung begriffen. Aber auch die wenigen lebenden Hefezellen aus einem vergorenen Wein heraus in den Weinbergsboden gebracht, werden sehr schnell zugrunde gehen, weil sie für einen derartig krassen Wandel im Standort nicht vorbereitet sind. Etwas anderes wäre es, wenn man Hefen in ihrer Dauerform als Hefesporen in den Weinbergsboden brächte. Aber im Geläger eines Weines bilden die Hefen keine Sporen. Dies können sie nur bei Luftzutritt.

Etwas ganz anderes ist es, wenn eine Hefe draußen im Weinberg in einer angestochenen oder am Boden liegenden Traubenbeere gewachsen ist. Im Gegensatz zu ihrem aufgezwungenen Dasein im Weinflaß kann hier Luft Zutreten. Unmittelbar aus der Gärungsphase tritt sie in die oxydative Phase, die durch reichliche Fettbildung gekennzeichnet ist, und anschließend begibt sie sich in die Dauerform, d. h. in die Sporenphase. Ausgestattet mit dem energiereichen Reservestoff Fett, eingekleidet in eine widerstandsfähige, fettdurchtränkte Membran, vermag sie sich so lange im Boden lebend zu erhalten, bis die nächste Ernte ihr wieder ein neues Erwachen in einem Zuckertropfen ermöglicht.

Die bei der Lesearbeit auf den Weinbergsboden fallenden Traubenbeeren und die sonst im Weinberg für die menschliche Wirtschaft verlorenen Trauben gehen in Wirklichkeit, d. h. für die Natur, nicht verloren. Der Winzer hat sie

¹⁾ Müller-Thurgau, H.: Neue Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Weingärung und deren Bedeutung für die Praxis. Bericht über die Verhandlungen des XI. Deutschen Weinbau-Congresses in Trier im September 1889. S. 80—100, 1889.

als Düngung der Zuckerpilze und als Tribut an die Hefeflora seines Weinberges zu betrachten.

Die mikrobiologischen Vorgänge in der Maische und im gekelterten Traubenmost

Mit dem Mahlen der Trauben setzt die Abwicklung einer ganzen Reihe mikrobiologischer Vorgänge ein. Die an der Oberfläche unverletzter und verletzter Beeren und der sog. Traubenkämme sitzenden Mikroben gelangen nun mit dem Zerquetschen der Beeren in den Saft.

Durch die freien Säuren des Traubensaftes und die osmotische Kraft des im Saft gelösten Zuckers findet sofort eine scharfe Auslese statt. Alle Organismen, welche die im Saft herrschende Konzentration des Zuckers und der freien Wasserstoffionen nicht ertragen können, werden teils getötet, teils am Auskeimen gehindert. Darunter fallen vor allem Bakterien, die von Natur bedeutend säureempfindlicher als Hefen und Schimmelpilze sind. Außerdem wirkt auf zahlreiche Bakterienarten Zucker geradezu giftig.

Alle übrigen säurewiderstandsfähigen Mikroben versuchen umgehend von dem Substrat Besitz zu ergreifen und es zu bevölkern. Je höher die Temperatur der Maische ist, um so schneller geht die Teilung und Sprossung der Keime vonstatten. Daher kommt in warmen Herbstern vielfach die Traubenmaische schon gärend im Kelterhaus an. In solchen Jahren sollte man die Maische schon draußen im Weinberg mit Kaliumpyrosulfit versetzen. Unbedingt notwendig ist diese Maßnahme aber vor allem dann, wenn die Maische nicht innerhalb weniger Stunden abgepreßt werden kann und über Nacht stehen bleiben soll.

Mit der schwefligen Säure greift nun der Mensch zum ersten Mal in die Mikrowelt des Mostes selektionierend ein, indem er mit ihr den gelösten Sauerstoff bindet. Der chemische Sauerstoffentzug wirkt einerseits bremsend auf die Vermehrung und Entwicklung aller im Most enthaltenen Mikroorganismen, andererseits läßt er die sauerstoffanspruchsvollen zunächst überhaupt nicht mehr aufkommen.

Der selektive Eingriff in die Zusammensetzung der kommenden Mikrobenbevölkerung des Traubenmostes muß in gewissen Jahren mit warmer Herbstwitterung und größerem Anteil an verletzten, angegorenen Traubenbeeren vorverlegt werden, nämlich vom Keller direkt in den Weinberg.

In normalen Jahren erfolgt der SO_2 -Eingriff in die Mostflora erst in dem Augenblick, in dem der von der Kelter ablaufende Preßmost in das eingeschweifte Faß im Gärkeller läuft. Je stärker der Faßeinbrand war, um so mehr nimmt der Most an SO_2 -Gas auf, um so mehr kommt es zu einer Festlegung des im Most gelösten Sauerstoffs, um so schärfer ist die Selektion der Mikroorganismen und um so langsamer die Entwicklung derjenigen, die bei dieser Situation noch weiterleben können.

Eventuell wird der Most „stumm“, wie der Kellerwirt sagt, das soll heißen, daß er kein Gärgeräusch von sich gibt. Aber nicht allein, daß der Kellerwirt mit dem Schwefeldioxyd eine allgemeine Selektion innerhalb der Mostmikroben erzielt, er greift sogar selektiv in die eigentliche Hefeflora ein, indem er diejenigen Hefearten, welche weniger zum Gären, sondern mehr zur Veratmung des Zuckers neigen, zugunsten derjenigen unterdrückt, die weniger

Sauerstoff brauchen und zur intramolekularen Atmung — als solche kann man die Gärung bezeichnen! — befähigt sind. Ja, er zwingt letztere geradezu zum Gären, weil durch den Sauerstoffentzug, den die SO_2 -Zugabe bewirkte, der nun vorhandene Sauerstoff in der Umgebung dieser Hefen für eine direkte Atmung nicht mehr ausreicht.

Die Rolle der schwefligen Säure im Most und Wein hat man früher vielfach verkannt und falsch gedeutet. Man sprach von Abtötung der wilden Hefen und unerwünschter Mikroben und betrachtete die schweflige Säure einzig und allein als Mikrobizid. Gewiß ist die schweflige Säure ein mikrobizider Stoff, jedoch nicht in den geringen Konzentrationen von 0,05—0,2‰, wie sie im Most und Wein angewendet wird. Diese Mengen reichen, wie später gezeigt werden wird, nicht aus, um Hefen zu „töten“. Der Kellerwirt greift vielmehr in das physikalisch-chemische System ein, das der moderne Biochemiker Reduktions-Oxydationspotential nennt und das auf Seite 63 näher behandelt ist.

Gesetzt den Fall, der Kellerwirt würde keinerlei Schwefeldioxyd in den Most gelangen lassen, sondern ihn so, wie er von der Kelter läuft, im Gärfaß sammeln und sich selbst überlassen, so würde der Verlauf der nun sich abspielenden mikrobiologischen Vorgänge folgender sein:

Wie schon Müller-Thurgau feststellte, vermehren sich im natürlichen, ungeschwefelten oder schwach geschwefelten Most in den ersten Tagen hauptsächlich die kleinzelligen, schwachgärigen Apiculatushefen durch eine außerordentlich lebhafte Sprossung. Die Folge ist, daß man in den ersten Tagen im Most zu 90—99,9% nur Angehörige dieser Hefegattung vorfindet. Die echte Weinhefe tritt zahlenmäßig mit nur wenigen Prozents in Erscheinung. Als bald dreht sich aber das Bild in der Zusammensetzung der Hefe-flora um. Nun kommt die echte, d. h. die erwünschte Weinhefe an die Reihe und schlägt alle ihre Konkurrenten auf Grund ihres weit größeren Gärvermögens. Sie entzieht der Konkurrenz den Zucker sozusagen unter den Füßen, indem sie ihn in Alkohol verwandelt. Während der Most bisher wohl schon deutlich CO_2 abgab, kommt er jetzt in die Phase der stürmischen Gärung. Entnimmt man jetzt eine Probe zum Studium der Zusammensetzung der Mostflora, so sieht man im Gegensatz zu vorher, vorherrschend die charakteristischen, großen Zellen der Gattung *Saccharomyces*, im Vergleich zu denen die der Apiculatushefe geradezu schwächlich erscheinen.

Im Konkurrenzkampf der Mostmikroben erscheint nun in mächtiger Weise ein neuer Selektionsfaktor, nämlich der ständig zunehmende Alkoholgehalt. Es gibt im Most Mikroben, darunter auch Hefen, welche nur wenige Prozente Alkohol aushalten und die schon bei einer Alkoholstufe von 2 Vol. % „schachmatt“ gesetzt werden. Je höher nun der Alkoholgehalt steigt, um so mehr Konkurrenten fallen aus, schließlich bleiben gegen Ende der alkoholischen Gärung nur diejenigen lebend übrig, welche einen Alkoholgehalt von 10 Vol. % und mehr ertragen zu vermögen.

Am Schluß der alkoholischen Gärung kann man in spontan vergorenen Weinen bis zu 200 Milliarden Hefezellen je Liter zählen. Hohe Zahlen findet man vor allem dann, wenn der Most wenig oder gar nicht eingeschwefelt wurde, weil dann eine große Zahl der kleinzelligen Apiculatushefen dabei sind.

Wurde dagegen der Most stärker eingeschwefelt, so findet man bedeutend geringere Zahlen, von 40—80 Milliarden Zellen im Liter.

Neben den chemischen Vorteilen, die das Schwefeln des Mostes dem Kellerwirt bringt, erzielt er mikrobiologisch den Vorteil, daß das Gärgut den

Nichthefen praktisch entzogen und den echten Hefen vorbehalten wird. Darüber hinaus werden sogar innerhalb der Hefen die gärschwachen zu Gunsten der echten Weinhefe unterdrückt und letztere an der direkten Veratmung von Zucker verhindert.

Der Weinhersteller hat ja in keinem Falle Interesse, Hefesubstanz zu gewinnen. Immer ist er bestrebt, den Zucker des Mostes möglichst rationell und ohne Nebenverluste in Alkohol verwandelt zu bekommen. In diesem Streben unterstützt ihn das Schwefeln bzw. das Schwefeldioxyd; denn wächst im Most eine zu große Zahl von Hefen und anderen Mikroorganismen, so geht dies natürlich auf Kosten des Zuckers. Die größere Masse an Hefesubstanz muß er aber mit einer analytisch feststellbaren geringeren Alkoholausbeute erkaufen.

Das früher öfter empfohlene Lüften der Moste und Weine ist mit Recht bei uns außer Mode gekommen und wird nur noch in besonderen Fällen, wenn z. B. die Gärung stecken blieb oder der Most zu stark eingeschwefelt worden war, gehandhabt.

1. Die Gärung des Mostes

a) Definition des Begriffes Gärung

In diesem Abschnitt verstehen wir unter Gärung stets die alkoholische Gärung der Hefe. Pasteur hat bekanntlich die Gärung als Fortsetzung des Lebens ohne Luft (*conséquence de la vie sans air*) definiert. Wenn wir die Pasteursche Definition so übersetzen, dann hat sie heute noch Gültigkeit. Falsch wäre es aber, die Gärung als Leben „ohne Sauerstoff“ aufzufassen, nachdem wir wissen, daß selbst obligate Anaerobier zum „Leben“ immer noch Sauerstoff benötigen. Ein Leben unter absoluter Abwesenheit von Sauerstoff, also bei $rH = 0$ gibt es wahrscheinlich nicht. Die Anaerobier benötigen zum Leben lediglich ein sauerstoffarmes Substrat, weil sie nur eine geringe Konzentration gelösten Sauerstoffs vertragen. Sie können jedoch Energie gewinnen, ohne Sauerstoff dazu zu benötigen, während die Aerobier Energie nur durch direkte Verbrennung, also direkte Atmung, wozu Sauerstoff notwendig ist, gewinnen können.

Die alkoholische Gärung der Hefe ist also eine Stoffumsetzung bzw. ein Energiegewinn ohne Sauerstoffbeteiligung.

Mit Wieland kann man diese Arbeit der Hefe auch als eine von ihren Enzymen bewirkte Kohlenstoffkettenverkürzung auffassen. Aus dem Grundstoff mit längerer Kohlenstoffkette entstehen kohlenstoffärmere Verbindungen in Form äquivalenter Mengen an Aethylalkohol und Kohlendioxyd.

b) Geschichtlicher Überblick

Über Wesen und Ursache der Gärung sind im vergangenen Jahrhundert hitzige geistige Fehden zwischen den größten Naturforschern der damaligen Zeit ausgefochten worden. Wir können uns hier eine Aufzählung der historischen Daten sparen, zumal ein Ausschnitt aus diesem Zeitgeschehen in der Einleitung dieser Schrift gebracht wurde.

Der Streit, ob die Gärung eine rein chemische Angelegenheit, wie die Chemiker Gay-Lussac und Liebig annahmen, oder eine biologische Angelegenheit ist, wie sie Cagniard-Latour, Schwann, Kützing und schließlich besonders energisch Pasteur vertrat, wurde im Prinzip zu Gunsten der biologischen Auffassung entschieden. Das Primäre ist dabei die lebende Pflanze (Hefe, Bakterium oder Fadenpilz), von der organische Katalysatoren, sog. Enzyme, produziert

werden, welche die Zuckerspaltung bewirken. Man kann, wie Buchner 1897 zeigte, diese Enzyme aus der lebenden oder toten Pflanze durch Auspressen oder Extraktion gewinnen und damit wenigstens für kurze Zeit sog. „zellfreie“ Gärungen durchführen. Der die alkoholische Gärung bewirkende Enzymkomplex wurde anfangs für ein einziges Enzym gehalten und Zymase getauft.

c) Der Chemismus des Gärungsvorganges

Die winzige chemische Fabrik „Hefezelle“ besitzt eine phantastische Leistungsfähigkeit. F. Just¹⁾ hat errechnet, daß eine einzige Hefezelle in der Gärungsphase 10 Millionen Maltosemoleküle in der Sekunde spaltet. In dessen handelt es sich dabei, wie wir wissen, nicht um einen einzigen Arbeitsgang, sondern um eine ganze Kette zahlreicher, kompliziert verknüpfter Einzelreaktionen.

Die Gay-Lussacsche Gärungsgleichung lautet:



Glukose Kohlendioxyd + Aethylalkohol

Links steht das Ausgangsprodukt, rechts stehen die Endprodukte, dazwischen müssen aber eine ganze Reihe von Einzelreaktionen in gesetzmäßiger Folge abgewickelt werden.

Um die Zwischen- und Teilvorgänge bemühte sich bereits der erste biologisch eingestellte Chemiker Adolf Bayer und stellte 1870 ein rein spekulativ abgeleitetes Gärungsschema auf. 1904 suchte Wohl durch ein anderes Schema der Wirklichkeit näher zu kommen. Beide Schemata entsprachen aber nicht den Tatsachen.

Einen großen Fortschritt bedeutete das 1913 von C. Neuberg aufgestellte Gärungsschema. Im Gegensatz zu seinen Vorgängern stützte Neuberg sein Reaktionsschema auf Experimente. Seine Methoden und seine Technik wurden das Vorbild für alle nachfolgenden, ähnlichen Untersuchungen.

Im Neubergschen Schema zerfällt die Glukose durch Wasserabspaltung zunächst in Methylglyoxal-aldol, das glatt in zwei Moleküle Methylglyoxal zerfällt.

Nun fügte Neuberg zum erstenmal die schon seit 1850 bekannte Cannizzaro²⁾-Reaktion in sein Gärungsschema ein. Das Methylglyoxal wird unter Zutritt von Wasser gleichzeitig oxydiert und reduziert, wodurch ein Molekül Glycerin (= 3wertiger Alkohol) und ein Molekül Brenztraubensäure entsteht.

In der 3. Stufe zerfällt durch Einwirkung des Hefeenzym Carboxylase das Molekül Brenztraubensäure in Acetaldehyd und Kohlendioxyd. Diesen Vorgang nennt man eine Decarboxylierung. Die Gärungskohlensäure stammt aus diesem Teilvorgang.

Um aber zum Endprodukt Alkohol zu gelangen, muß abermals eine Cannizzaro-Reaktion eintreten, und zwar wird das in der 3. Stufe entstandene Acetaldehyd mit Hilfe des Wasserstoffs eines Moleküls Wasser zu Aethylalkohol reduziert und ein Molekül Methylglyoxal zu Brenztraubensäure

¹⁾ Just, F. Die Größe der Oberflächen, die durch die Hefezellen beim Gären und durch den Hopfen beim Kochen in die Würze hineingelangen. *Wochenschrift für Brauerei*, 57. Jahrg., S. 262—264, 1940.

²⁾ Stanislaw Cannizzaro, italienischer Chemiker (1826—1910) entdeckte die gleichzeitige Oxydation und Reduktion von Benzaldehyd zu Benzoësäure Benzylalkohol, ihm zu Ehren Cannizzaro-Reaktion genannt.

oxydiert. Die in dieser Stufe anfallende Brenztraubensäure wird dann in der 3. Stufe des Schemas wieder decarboxyliert und weiterverarbeitet.

Das Neubergsche Gärungsschema war nicht das einzige, aber das erste seiner Art und wirkte ungemein anregend. Nach einer ganzen Reihe von Gärungsschemen, die von Lebedew 1914, Kluyver und Struyk 1926, Ohle 1931, Nilsson, Emden, Meyerhof und Kießling in den Jahren 1933–1936 erarbeitet wurden, kristallisierte sich aus all diesen Bemühungen unser heutiges Schema vom Ablauf der Kettenreaktion „alkoholische Gärung“ heraus. Die Kettenreaktion durchläuft folgende Stufen:

1. Stufe: 2 Moleküle Phosphorsäure treten mit der Hexose mit Hilfe des Hefeenzym Phosphatase in Reaktion, wobei 2 Moleküle Wasser austreten und die labile Verbindung Hexosediphosphorsäure entsteht. Diese Stufe nennt der Biochemiker Phosphorylierung.
 2. Stufe: In der an sich unbeständigen Verbindung Hexosediphosphorsäure greift nun ein weiteres Teilstück des Zymasekomplexes der Hefe, das kettenlösende Enzym, die Desmolase (desmos = Band, lösen = lösen) Zymohexase ein und sprengt es in 2 gleiche Teile, also 2 Moleküle, welche als Dioxyacetonphosphorsäure oder Triosephosphorsäure oder auch als Glycerinaldehyd-Phosphorsäure bezeichnet werden können.
 3. Stufe: Jedes dieser beiden in Stufe 2 entstandenen Moleküle tritt nun mit Wasser in Reaktion, wodurch eine Übergangsverbindung, das Dioxyaceton-Hydrat, entsteht. Nun greift das Teilenzym Dehydrase der Hefe ein, spaltet den Wasserstoff des eben angelagerten Wassermoleküls ab, wodurch als neues Produkt Phosphorglyzerinsäure entsteht.
- Den abgespaltenen Wasserstoff nimmt als „Akzeptor“ ein Molekül Acetaldehyd auf, das unterdessen als Zwischenprodukt angefallen ist. Dieser hydrierte Acetaldehyd ist der Gärungsalkohol. Wir haben hier eine typische Oxydoreduktion, also eine gleichzeitige Oxydation und Reduktion, eine sog. Cannizzaro-Reaktion vor uns. Diese Reaktion kostet einerseits Energie und setzt andererseits bei der Hydrierung des Acetaldehyds Energie in Freiheit.
4. Stufe: Die in der 3. Stufe entstandene Phosphorglyzerinsäure wird alsbald dephosphoryliert, d. h. von ihr die Phosphorsäure abgespalten, welche wieder in Stufe 1 eingreifen kann. Der nach der Dephosphorylierung verbleibende Molekülrest ist die Brenztraubensäure.
 5. Stufe: Das Intermediärprodukt Brenztraubensäure existiert nur ganz vorübergehend, es wird durch das Hefeenzym Carboxylase (= ein COOH abspaltendes Enzym) in CO₂, das ist die Gärungskohlensäure, und in Acetaldehyd gespalten. Letzterer wird aber sofort als Wasserstoffakzeptor in Stufe 3 benützt.

Der Kreislauf der Teilreaktionen ist nun geschlossen. Bis die Reaktionen aber in der hier im Schema aufgezeigten Art sich abwickeln können, muß, wie Meyerhof, Lohmann und Kießling gezeigt haben, zunächst eine Angärungsphase eintreten. In dieser Phase entsteht in Stufe 3 noch kein Alkohol, weil noch kein Acetaldehyd angefallen ist, sondern es entsteht aus dem einen der beiden in Stufe 2 anfallenden Moleküle Dioxyacetonphosphorsäure durch Reduktion Glycerinphosphorsäure, aus der durch Dephosphorylierung Glycerin entsteht.

Wenn dann bei der Abwicklung der Kettenreaktion aus dem Brudemolekül in der Stufe 5 das erste Molekül Acetaldehyd entstanden ist, ist das Stadium der Angärung vorüber und der sog. „stationäre Zustand“ erreicht.

Das bei jeder Alkoholgärung anfallende Glycerin stammt aus der Angärungsphase. Das Gärungsschema vermittelt uns tiefe, früher ungeahnte Einblicke in die Arbeit der chemischen Meisterin Hefe.

2. Morphologie und Biologie der Zuckerpilze (Hefen)

Wenn in den vorhergehenden Abschnitten generell von „der“ Hefe¹⁾ die Rede war, so hatten wir sozusagen nur die Hefe als Pflanzentyp im Auge. In Wirklichkeit tritt uns diese mikroskopisch kleine Pflanze, wie später die Kapitel über Hefesystematik zeigen werden, trotz der primitiven Organisation bereits in einer erstaunlichen Vielfalt von Gestalten und Formen entgegen. Außerdem unterliegen Gestalten und Formen während der Lebenskreisläufe

und unter dem Einfluß der verschiedenen Nährmedien dauernd regelmäßigen oder unregelmäßigen Wandlungen.

Zunächst wollen wir uns die äußere und innere Gestaltgebung des Pflanzentyps „Hefe“ betrachten.

a) Äußerer und innerer Bau der Hefezelle

Während man früher annahm, daß die Membran der Hefezelle lediglich aus Zellulose oder Hemizellulose bestünde, zeigten neuere Untersuchungen, daß

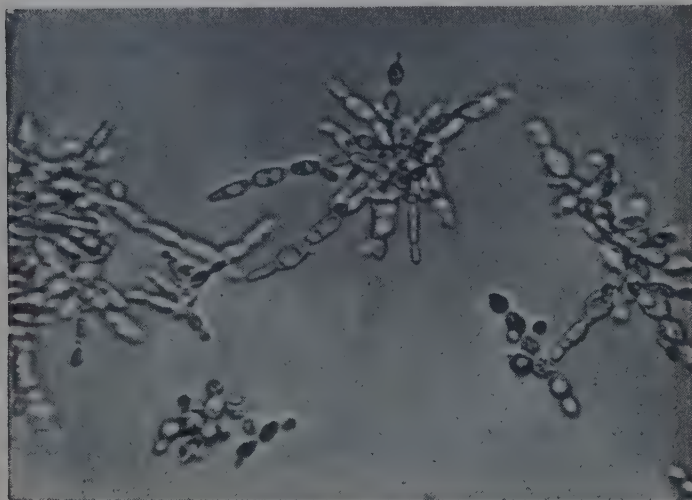


Abb. 2. Ein Sproßverband einer Weinhefe.

(Phot. Dr. Krumbholz.)

dies nicht der Fall ist. Die Membran der Hefezelle gibt weder eindeutige Chitin- noch eindeutige Zellulosereaktion. Nur die Angehörigen der Familie der *Endomycetaceae*, deren Vertreter gewöhnlich nicht in Most und Wein vorkommen, besitzen eine Zellmembran aus Chitin. Die Membran der übrigen Hefen ist aus komplizierten Eiweißverbindungen zusammengesetzt, u. a. soll ein Phosphorglykoproteid beteiligt sein. Die Membran ist elastisch und semipermeabel, d. h. für Wasser und die darin gelösten Stoffe bis zu einer gewissen Molekülgröße durchlässig. Die Membran der Hefesporen ist besonders dauerhaft und stark mit Fett durchsetzt, wie die Aufnahmen mit dem Phasenkontrastverfahren deutlich zeigen. Bei manchen Hefegattungen ist die Membran quellbar, was ebenfalls auf den Einbau von hochmolekularen Kondensationsprodukten von Zuckern hindeutet. Im übrigen ist die Membran der Hefe sehr widerstandsfähig, was vor allem die Arbeiten über die biolo-

¹⁾ Der deutsche Name Hefe leitet sich ab von „heben“, ebenso wie sich das franz. *levure*, span. u. portugiesische *levadura* und italienische *lievamento* vom lateinischen *levare* = erheben ableitet. Das englische Wort *yeast* für Hefe dagegen ist des gleichen Ursprungs wie das holländische *gist* = Gischt.

gische Fettsynthese mit Hefe beweisen, da das vom Hefeplasma synthetisierte Fett nur nach Zerstörung der Zellmembran restlos gewonnen werden kann. Auf chemischem Wege ließ sich die Membran der sog. „Fetthefen“ nur mit starken, heißen Säuren, z. B. mit konzentrierter Phosphorsäure befriedigend auflösen.

Die Form der Hefe kann kugelförmig, elliptisch, länglich-wurstförmig, schließlich sogar hyphenförmig sein.

Die Zellmembran umschließt das Protoplasma, den kolloidalen, eigentlichen Träger des Lebens. Das Protoplasma zeigt während des Lebens verschiedene Dichte und Struktur, worauf sich die in der technischen, mikroskopischen Betriebskontrolle öfters sehr wertvolle Abschätzung des Lebensalters der Hefezellen gründet.

Jugendliche Hefezellen weisen nämlich ein bläulich-durchsichtiges Protoplasma von geringer Dichte, ohne deutliche Inhaltsstoffe, wie Fettkugeln, außer den immer vorhandenen Chondriosomen, die bei jugendlichen Zellen noch zart und wenig verfettet sind, auf. Die als Chondriosomen oder Mikrosomen bezeichneten, ohne Hilfsfärbung *intra vitam* sichtbaren, kugelförmigen Plasmaorgane werden in der älteren Literatur „Granula“ (Verkleinerung von *granum* = Korn) genannt. Das Protoplasma der jugendlichen Zellen füllt in der ersten Zeit nie den ganzen Zellraum aus, sondern zeigt einen oder mehrere plasmafreie, nur von Zellwasser gefüllte Räume, die Vakuolen (*vacuum* = leer) genannt werden.

Voll erwachsene, gut ernährte Hefezellen bekommen immer mehr eine dichtere Plasmastruktur, und die bläuliche Grundfärbung des Plasmas weicht einer mehr gelblich-grünlichen. Durch die größere Dichte können nämlich die Lichtstrahlen mit kürzeren Wellenlängen nicht mehr hindurch. Das ältere Protoplasma wirkt sozusagen als Filterschicht für blaue und violette Strahlen. Unterdessen sind auch die Vakuolen eingeengt worden. Nicht nur, daß die Granula mit einer mehr oder minder starken Fettschicht umgeben sind, es treten je nach Ernährungsbedingungen verschieden große Fettkugeln auf, und ganze Plasmapartien sind mit Fett inkrustiert.

Die Fettkugeln, sowie die Fettinkrustierungen von Chondriosomen und Plasma können mittels Sudanglyzerin rot und Osmiumsäure schwarz gefärbt und dadurch als Fettstoffe identifiziert und im mikroskopischen Bild kontrastreich hervorgehoben werden.

Neben den ohne weiteres sichtbaren Plasmaeinschlüssen kann die erwachsene Hefezelle im Protoplasma unsichtbar den Reservestoff Glykogen = Leberstärke gespeichert haben. Dieses im Tierkörper weit verbreitete (vor allem in der Leber, daher die Bezeichnung Leberstärke) Polysaccharid

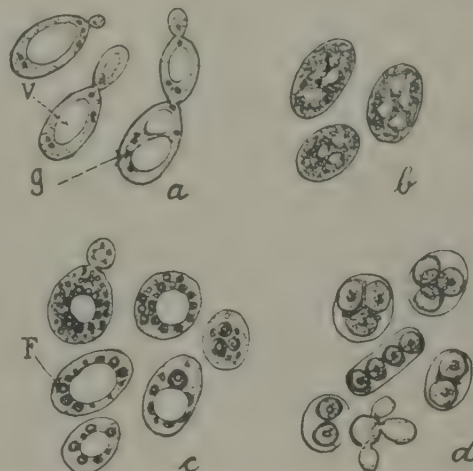


Abb. 3. 4 Lebensstadien der Hefe. a Sprossend, vor und während der Gärung. b Ruhend nach der Gärung. c Oxydatives Stadium. d Sporulation. V = Vakuole, g = Granula, F = Fettkugeln.

($C_6H_{10}O_5$)_n ist im Pflanzenreich nur bei Pilzen, Bakterien, Schleimpilzen und blaugrünen Algen anzutreffen. Die Hefe bildet besonders reichlich Glykogen. Letzteres läßt sich mit Hilfe einer Jodjodkaliumlösung sichtbar machen. Es erscheint dann mahagonibraun. Diese Glykogenreaktion hat man früher praktisch in den Dienst der technischen Betriebskontrolle zu stellen versucht.

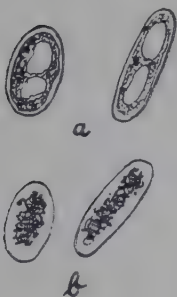
So hat Wortmann in seinen „Wissenschaftlichen Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft“¹⁾, das als Standardwerk seiner Zeit galt, die Glykogenprobe zur Bestimmung des richtigen Zeitpunktes des Abstiches empfohlen. Sie hat sich, wie man feststellen kann, in der Praxis nicht durchgesetzt. Dies liegt nicht etwa daran, daß sich die Praktiker nicht mit dem Umgang des Mikroskopes befreunden konnten, sondern in erster Linie daran, daß die Glykogenerzeugung der Hefe großen Schwankungen unterworfen ist und aus dem Nachweis oder Nichtnachweis des Glykogens in der Weinhefe weder nach der einen noch nach der anderen Richtung Anhaltspunkte für die Behandlung des Weines zu gewinnen sind.

Wenn nun entweder der Zucker restlos in Alkohol umgesetzt oder die jeweils höchstmögliche Alkoholstufe erreicht ist, hört die Hefe zu sprossen und zu gären auf. Sie setzt sich am Grunde der Gärbehälter ab und der Praktiker nennt sie „ruhende“ oder „hungernde“ Hefe. Die Hefezellen erhalten sich noch einige Zeit mit Hilfe der während der Gärung eingelagerten Reservestoffe am Leben, aber je höher die von der Hefe selbst erzeugten Alkoholgrade im Wein sind, um so schneller stirbt sie ab. 4—6 Wochen nach dem Ende der Gärung finden wir nur mehr 1—2% der Hefezellen am Leben.

Das Protoplasma der Zelle schrumpft zusammen und hebt sich von der Zellwand ab. Dieser Zustand ist in der Regel irreversibel, d. h. nicht mehr rückgängig zu machen. Indessen muß man hier streng genommen zwischen Zelltod und Protoplasmatod unterscheiden. Zuweilen ist das von der Zellwand abgehobene, kontrahierte Protoplasma, wieder in frisches Nährmedium gebracht, zur Regeneration und Rekonstitution einer neuen Zelle befähigt.

Für den Praktiker genügt es, wenn er im mikroskopischen Bild unterscheiden kann:

1. ob die Hefezellen jung oder alt sind,
2. anoxybiontisch oder oxybiontisch (= oxydativ) gelebt haben,
3. lebend oder tot sind. Im letzteren Falle, ob sie schon sehr lange Zeit tot oder erst vor kurzer Zeit abgestorben sind. Je nachdem das Hefeplasma aus-



sieht, kann er entweder die Gärungsgeschichte des betreffenden Weines rekapitulieren und rekonstruieren und feststellen, ob der Wein noch in der Gärung, am Ende der Gärung oder schon lange Zeit mit der Gärung fertig ist. Gleichzeitig bekommt er aus dem Hefebild einen Anhaltspunkt für die weitere Behandlung des Weines.

Abb. 4. Tote Hefezellen. a durch Abbrühen mitten im Leben getötete, b in Zerfall (Autolyse) befindliche Zellen.

b) Cytologie der Hefe

Durch die Vererbungsexperimente an Hefen von Winge und Laustsen ist wieder die alte Streitfrage, ob die Kernteilung bei Hefen amitotisch oder mitotisch, d. h. ohne oder mit Chromosomenbildung, verläuft, akut geworden. Lange Zeit wurde sogar heftig darüber gestritten, ob die Hefen einen echten

¹⁾ Parey, Berlin 1905.

Zellkern (Nukleus) hätten oder nicht. Es ist bis heute noch nicht entschieden, ob die Hefen echte Kerne aufweisen oder nicht.

Bildet aber bei der Sprossung und bei der Sporenbildung die Hefezelle einen Chromosomenapparat oder nicht? Nach den Wingeschen Vererbungsversuchen muß man mindestens so etwas ähnliches wie einen Chromosomenapparat annehmen. Zwei Forscher, nämlich Kater¹⁾ (1927) und Badian²⁾ (1937) berichteten über regelrechte Chromosomen und Karyokinesen.

Die größte Autorität auf diesem Gebiet, nämlich der französische Mikrobiologe Guilliermond³⁾ bezweifelte stark die Auslegungen der beiden Autoren, obwohl Guilliermond selbst bei *Schizosaccharomyces* Vorgänge beobachtete, die nach Spindel, Äquatorialplatte, Polkappen, Chromosomen, kurzum nach Mitosis aussahen. 1941 berichteten die Japaner Shinoto⁴⁾ und Yuasa wieder über den Nachweis echter Chromosomen bei *Saccharomyces cerevisiae* mittels Eisenkarminessigsäure und Feulgenreaktion, und zwar wollen sie 4 Chromosomen festgestellt haben. Andererseits wurde 1940 von 3 Forschern, nämlich Beams⁵⁾, Zell und Sulkin die Existenz von Hefechromosomen deswegen bestritten und als sehr fraglich hingestellt, weil die Hefen nicht auf das Chromosomengift Colchicin reagieren.

Wir sehen also, diese Frage ist noch ganz unentschieden. Hinzu kommt die Möglichkeit, daß verschiedene Forscher die Chondriosomen der Hefe für Chromosomen gehalten haben, zumal bei den Hefen je Zelle nicht eine beliebige, sondern anscheinend eine relativ konstante Zahl von Chondriosomen charakteristisch ist, die Chondriosomen Feulgenreaktion geben können und bei der Sporen- und Zellbildung in ganz ähnlicher Weise und mit ähnlichen Figuren wie die Chromosomen der höheren Pflanzen verteilt werden.

Außerdem ist es leicht möglich, daß die Chondriosomen bei niedrigen Pflanzen eine ähnliche Funktion haben wie die Chromosomen bei den höheren Pflanzen. Erschwerend wirkt der Umstand, daß der Kern der Hefen sich mit Farbstoffen nur nach vorheriger Behandlung (Fixierung) mit Chemikalien sichtbar machen läßt, was mit einer totalen Deformierung der Zellen erkauft werden muß, während die Chondriosomen sogar ohne Färbung *intra vitam* sichtbar sind.

Die Chondriosomen der Hefe, die früher als Granula oder Mikrosomen bezeichnet wurden, sind neuerdings stärker in den Vordergrund des Interesses gerückt. Man kann an ihnen gerade bei den Hefen so deutliche immer wiederkehrende Lebensäußerungen beobachten, daß man direkt von einer Biologie der Chondriosomen sprechen kann.

An dem Gebaren der Chondriosomen kann man schon merken, ob eine Zelle vorhat, sich zu teilen oder Sporen zu bilden. Ehe wir nämlich an der Zellgestalt selbst etwas von ihrem Vorhaben merken, beginnen die Chon-

¹⁾ Kater, J. McA. Cytology of *Saccharomyces cerevisiae* with special reference to nuclear division. Biol. Bull. (Am.) Bd. 52, S. 436—448, 1927.

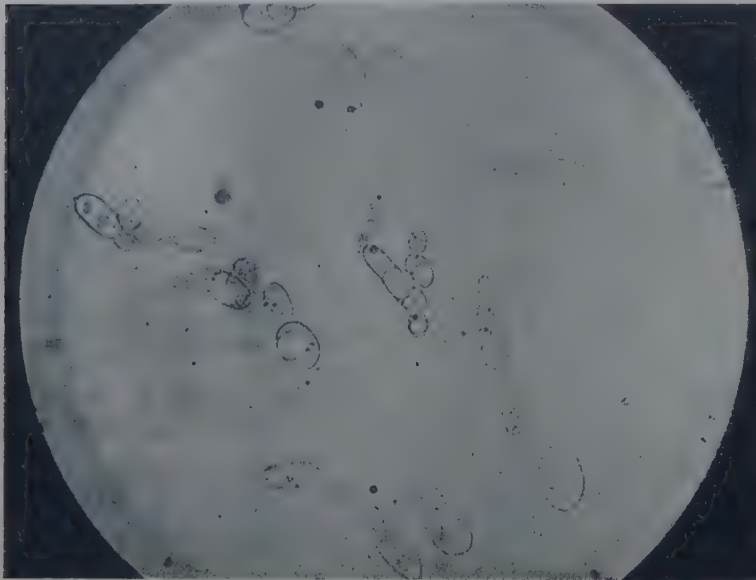
²⁾ Badian, J. Sur la cytologie des levures. Bull. intern. l'acad. polon. sci., classe sci. mathem. nat., B (1), no. 1—5 Bl., S. 61—87, 1937.

³⁾ Guilliermond, A. Sexuality, developmental cycles and phylogeny of the yeast. Boran. Bd. 6, S. 1—24, 1940.

⁴⁾ Shinoto, Y. and Yuasa, A. Karyological studies in *Saccharomyces cerevisiae* (Div. of Plant-Morphol. a. of Genet., Botan. Inst. Imp. Univ. Tokyo). Cytologia (Tokyo), Bd. 11, S. 464—472, 1941.

⁵⁾ Beams, H. W., Zell, L. W. and Norman M. Sulkin. Cytological studies on yeast cells with special reference to the budding process. (Zytolog. Untersuchungen an Hefezellen mit bes. Berücksichtigung der Sprossung), (Dept. of Zool. State Univ. of Iowa City). Cytologia (Tokyo) Bd. 11, S. 30—36, 1940.

chondriosomen sich zu versammeln und zu teilen, und zwar bei jeder Hefegattung in charakteristischer Weise. Während der Teilungsphase (Chondrioschisis) sehen die Chondriosomen meist wie Diplokokken hantelförmig aus. Hatte die



Zelle vorher 4 Chondriosomen, so sehen wir in diesem Stadium 4 Paare. Nun gehen 2 Paare zu je 4 Chondriosomen auf die eine, die anderen 2 Paare auf die andere Seite. Wir können mit Winge direkt von einer Chondriokinesis sprechen.

Abb. 5. Junge sprossende Hefezellen. Vakuolen und Granula (= Chondriosomen) sind gut sichtbar.

Sproßt oder teilt sich nun die Hefezelle, so bekommt die Tochterzelle die eine Chondriosomengarnitur mit, während die andere in der Mutterzelle verbleibt. Besonders eindrucksvoll sind die Wanderrungen und Wandlungen der Chondriosomen, wenn eine Zelle im Begriff ist, Sporen zu bilden. Vor



Abb. 6. Zellen von *Schizosaccharomyces* Pombe in Chondrioschisis vor der Sporulation. Chondriosomen als helle Diplokokken- u. Hantelgebilde.

der Sporenbildung werden die Chondriosomen fein säuberlich in so viel Gruppen aufgeteilt wie Sporen gebildet werden sollen. Wenn es so weit ist, kann man bereits genau die Zahl der kommenden Sporen,

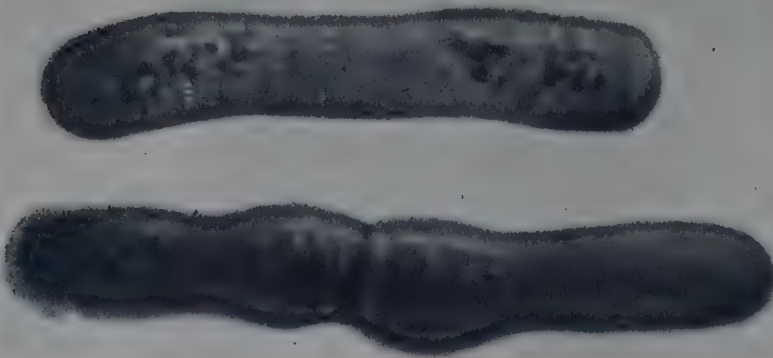


Abb. 7. *Schizosaccharomyces* Pombe mit Chondrioschisis vor der Zellteilung. Phasenkontrastaufnahme von Dr. Reumuth. Vergrößerung 3100 : 1.

ja sogar häufig schon ihre Form (ob kugelig oder halbkugelig) voraussagen. Die Chondriosomen scharen sich in Gruppen, was wir als Chondriochoris (chorein (griech.) = einen Kreis, eine Schar bilden) bezeichnen können.

Hierauf folgt die Verschmelzung der Chondriosomen (Chondriosynthese, von griech. *synthesis* = Verschmelzung). Anscheinend werden sie zum Bau der Sporenwand verwendet; denn es sieht nicht so aus, als ob um die Chondriosomenschar eine Wand herum gebaut wird, sondern so, als ob sie selbst durch Verschmelzung die dicke Sporenwand bilden würden.

Wenn die Gesamtheit der Chondriosomen, die man das Chondriom einer Zelle nennt, sich über die Normalzahl hinaus vermehrt, ohne daß sich die Zelle teilt, so kommt es zu übernormal großen, manchmal zu Riesen- oder sog. Gigaszellen. Die Vervielfachung (Polyploidisierung) des Chondrioms kann künstlich durch Stoffe wie Campher, Acenaphten etc. ausgelöst werden.

Diese Stoffe lösen ein luxurierendes Wachstum des Chondrioms aus, wodurch Riesenzellen entstehen. Derartige abnorme Zellen zeigen oft eine Erscheinung, die man Plasmoptyse (ptyein griech. = spucken) nennt. Sie entledigen sich des ganzen Chondrioms oder eines Teiles desselben durch „Ausspucken“. Man kann darin den Versuch der Zelle erblicken, das Chondriom wieder auf die Normalzahl herabzuregulieren.

Bei gewissen Hefen, z. B. bei Vertretern der Gattungen *Mycoderma* und *Pichia*, aber auch bei *Saccharomyces* im oxydativen Stadium, kann man häufig beobachten, daß die Chondriosomen durch die Zellwand hindurch nach außen schlüpfen, außen auf der Zellwand aufliegen, so daß diese Hefe wie „geigelt“ aussieht. Sie lösen sich auch von der Außenwand ab und werden durch Molekularbewegungsstöße des Mediums in der Nährflüssigkeit triftend verfrachtet.



Abb. 8.
Das Austreten von Chondriosomen aus einer Zelle von *Mycoderma*, phasenkontrastoptisch festgehalten.

Vergr. 1800 : 1.
(Phot. Dr. Reumuth.)

Sie können eine Mikrokokkeninfektion vortäuschen und wurden früher auch für eine solche gehalten. In Wirklichkeit müssen wir darin einerseits eine Möglichkeit der Regulierung der Chondriosomenzahl der Hefezelle und andererseits eine Möglichkeit der Hefezelle sehen, auf diese Weise ihren Aktionsradius zu erweitern und die Chondriosomen, welche bestimmte Stätten der Synthese vieler wichtiger Enzyme sind, als eine Art „chemischer Sendboten“ zu benutzen.

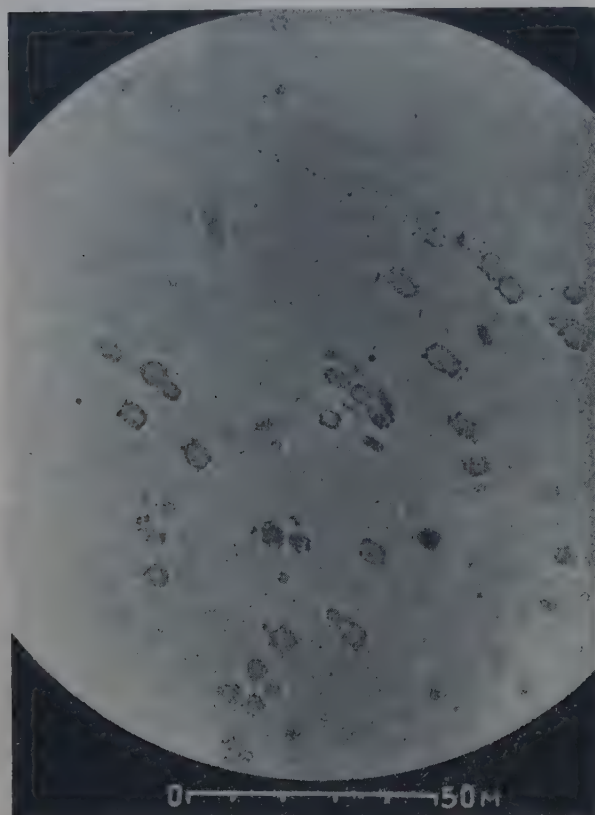
So wissen wir heute, daß die Auswanderung der Chondriosomen bei den Kahlhefegattungen *Mycoderma* und *Pichia* mit der Zeit der stärksten Erniedrigung des Reduktions-Oxydations-Potentials des von ihnen bewachsenen Mostes zusammenhängt. Die ausgewanderten Chondriosomen müssen Reduktasen produzieren, sonst wäre dieses Phänomen nicht verständlich. Die Auswanderung der Chondriosomen kann bei Kahlhefen so stark werden, daß es zu einer offensicht-

licken Verarmung der Stammzellen kommt und diese nurmehr Zwergzellen hervorbringen, die eben deswegen zwergig sind, weil sie zu wenig Chondriosomen mitbekommen.

Biologisch außerordentlich bedeutsam ist, daß die Chondriosomen der Hefen und Pilze auch außerhalb der Zellen in geeigneten Medien ihre Teilungsfähigkeit beibehalten und sich weiter entweder in Chondriosomengestalt vermehren oder sich sogar zu Bakterien entwickeln können, (Siehe Kapitel *Mucoraceen* Seite 127.)

Letztere Erscheinung besagt uns, daß auch die Hefe- und Pilzzelle bereits eine Symbioseerscheinung ist und sich aus kleineren, unter Umständen zu

vollkommen selbständigem Leben befähigten Lebensseinheiten zusammensetzt. Diese Tatsache ist auch für die Abstammung (Phylogenie) und Systematik der Hefen von großer Bedeutung.



c) Variabilität und Mutation bei Hefen

Häufig lassen sich an einer Hefereinkultur von selbst (spontan) auftretende Veränderungen physiologischer und morphologischer Art feststellen. Es hat sich eingebürgert, nicht vererbare Veränderungen Variationen, vererbare aber Mutationen zu nennen.

Abb. 9. Durch Chondriosomenexkretion „igelartig“ erscheinende Zellen einer Weinhefe in oxydativem Stadium. Vergröß. 500 : 1.

Nun kann man bei Hefen nicht so einfach Vererbungsversuche wie bei höheren Pflanzen durchführen. Daher können wir hier nicht den üblichen strengen Unterschied bei den Begriffen Variation und Mutation machen. Wir wenden hier den Begriff Mutation im weitesten Sinne des Wortes an und verstehen darunter Veränderungen in der Gestalt, im Wuchs und in der Physiologie. Die abgeänderten Stämme heißen einfach Mutanten.

Gewisse Hefegattungen und Arten neigen stärker zu Mutationen. So haben Punkari¹⁾ und Henrici (1933) *Torulopsis pulcherrima* Lindner studiert und in Riesenkolonien dieser Hefe eine große Anzahl von Sektorialmutanten festgestellt. Sie heißen deswegen so, weil in einer Riesenkolonie auf Agar oder Gelatine jeweils plötzlich ein Sektor mutiert. Diese Hefe bildet normalerweise weiße Kolonien. Es traten nun von selbst rosafarbene Sektorial-

¹⁾ Punkari, L. and Henrici, A. T. A study of variation in a chromogenic asporogenous yeast. J. Bacter. Bd. 26, S. 125—138, 1933. Further studies on spontaneous variation of *Torula pulcherrima*. J. Bacter. Bd. 29, S. 259—267, 1935.

mutanten auf, die abgeimpft diese Farbe beibehielten. Ebenso traten Mutanten mit glatt oder gekräuselt wachsenden Riesenkolonien auf. Die gekräuselt wachsenden Rassen bildeten rudimentäres Myzel.

Wenn eine Pflanze schon von selbst zu Mutationen neigt, so ist sie auch für künstliche, experimentelle Mutationsauslösung geeignet. In der Tat sind von zahlreichen Forschern an Hefen viele künstliche Mutationen ausgelöst worden. Der Russe Nadson¹⁾ hat mit seinen Schülern mit Hilfe von Radiumemanation und X-Strahlen zahlreiche Mutanten erhalten. Seine „Radiumrasse B“ soll um 32% größere Ernte und 106% größere Gärkraft gezeigt haben als die Ausgangsrasse. Ebenso sind mit Giften, wie Kaliumcyanid, Lithiumchlorid, Pikrinsäure und mit dem Farbstoff Brillantgrün Mutationen ausgelöst worden.

Während die Nadsonschule hauptsächlich von positiven Mutanten berichtete, fehlte es aber auch nicht an gegenteiligen Feststellungen. So bestrahlten Lacassagne²⁾, Schoen und Berand (1939) eine Weinhefe mit Polonium und erzielten Spalt-rassen, die aber in der Gärkraft in allen Fällen schwächer als die Ausgangsrasse waren.

Über experimentelle Mutationsauslösung bei Hefen mittels Campher, Acenaphten und a-Naphtylamin berichtete 1941 bis 42 R. Bauch³⁾. Aus den von

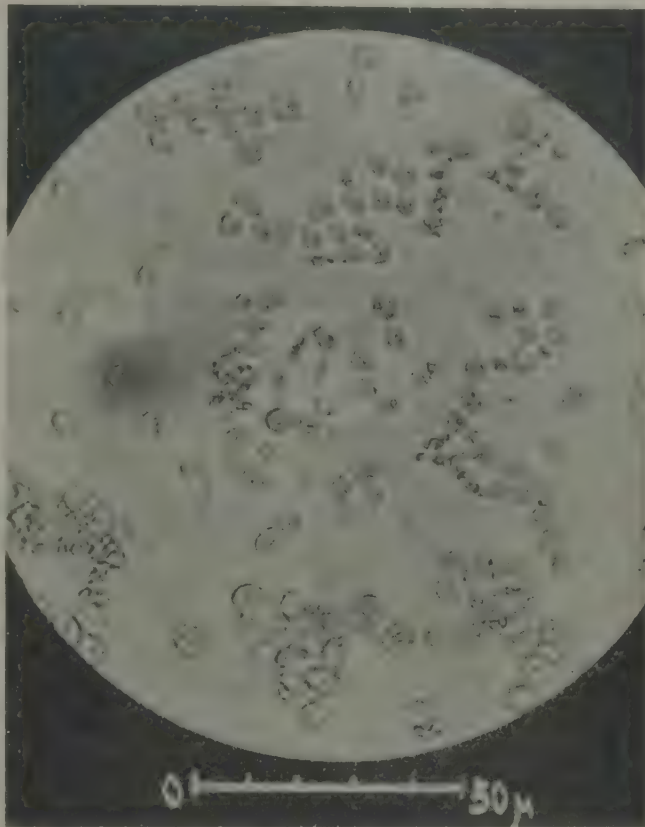


Abb. 10. Abgesunkene Zellen einer älteren Jerezhefedecke in Auflösung. Außerhalb der Zellen freies Chondriom, dazwischen sieht man auch einige leere Zellhäute.

¹⁾ Nadson, G. (A.) et G. Phillippov. De la formation de nouvelles races stables chez les champignons inférieurs sous l'influence des rayons X. C. r. Soc. Biol. Bd. 186, S. 1566—1568, 1928.

²⁾ Lacassagne, A., Schoen, M. et Berand, P. Contribution à l'étude des radio-races de levures. II. Caractères physiologiques de quelques radio-races d'une levure de vin. (Inst. Pasteur, Paris) Ann. des Fermentat Bd. 5, S. 129—152, 1939.

³⁾ Bauch, R. Experimentelle Mutationsauslösung bei Hefe und anderen Pilzen durch Behandlung mit Campher, Acenaphten und Colchicin. Die Naturwissenschaften, 29. Jahrg., S. 503—504, 1941.

Experimentell erzeugte Polyploidreihen bei der Hefe. Ebenda 29. Jahrg., S. 687—688, 1941.

Experimentelle Auslösung von Gigas-Mutationen bei der Hefe durch carcinogene Kohlenwasserstoffe. Ebenda, 30. Jahrg., 1942.

Über Beziehungen zwischen polyploidisierenden, carcinogenen und phyto-hormonalen Substanzen. Auslösung von Gigas-Mutationen der Hefe durch pflanzliche Wuchsstoffe. Ebenda 30. Jahrg., 1942.

Bauch beigegebenen Lichtbildern seiner Hefemutanten ist ersichtlich, daß in der Hauptsache das Chondriom verändert wurde. Colchicin, das wirksamste Polyploidisierungsmittel für höhere Pflanzen, erwies sich für Hefen als völlig unwirksam.

d) Die Genetik der Hefen

Schon 1901 haben Guilliermond¹⁾ bei der Gattung *Schizosaccharomyces* und Barker²⁾ bei *Zygosaccharomyces* Sexualitätserscheinungen festgestellt. Später wurden solche bei den Gattungen *Debaryomyces* und *Nadsonia* festgestellt. Damit war der Grundstein zur speziellen Genetik der Hefen gelegt, aber erst Winge und Laustsen haben Methoden entwickelt, um die Vererbungsverhältnisse der Hefen zu untersuchen.

Schon früher hat man da und dort angebliche Degenerationserscheinungen bei Hefereinkulturen, wie z. B. das plötzliche Verschwinden einer erwünschten guten Eigenschaft bei einer Heferasse, beobachtet und dies nicht anders als mit dem Wort „Degeneration“ erklären können.

Heute wissen wir durch Winges Arbeiten³⁾, daß eine Reinkultur einer Hefe aufhören kann gleichartig zu sein und zu bleiben, wenn sie diploid ist und Gelegenheit findet, Sporen zu bilden, die im Kulturmedium wieder auskeimen.

Es kommt häufig vor, daß die Hefen im oxydativen Stadium im Hefering an der Gefäßwand Sporen bilden. Sodann kann vorkommen, daß die vegetativen Zellen absterben und die dauerhafteren Sporen lebend übrigbleiben. Da bei der Sporenbildung eine Aufspaltung der Erbanlagen auftritt, können die Nachkommen der Sporen ganz andere Eigenschaften aufweisen wie die Stammkultur vorher hatte.

Diese Tatsachen sind heute bei der Hefekultur zu berücksichtigen. Absolutes Gleichbleiben der Eigenschaften dürfen wir nur von solchen Kulturen erwarten, die von einer haploiden Spore oder haploiden Zelle ausgingen. In die Genetik der Hefen haben wir vor allem durch eine Studie von Winge und Laustsen (1939)⁴⁾ über *Saccharomycodes Ludwigii* Einblick erhalten. Sie konnten zeigen, daß die Eigenschaften der aus isolierten Sporen dieser Hefe gezogenen Stämme vom Gang der Mendelspaltung abhängen. Es konnten wuchs- und zellformbestimmende Gene nachgewiesen werden. Gen N erzeugte Normalnachwuchs, Gen n einzelne kurze Hyphen, Gen L erzeugte lange, zylindrische Zellen und Gen l kurze, kugelförmige Zellen. Diese Eigenschaften können spalten und in der Kombination Nl und nL auftreten. In jedem Sporenpaar eines Askus hat die eine Spore den einen, die andere den anderen Satz, entweder Nl und nL oder NL und nl. Die Eigenschaft rauhe und gelappte Riesenkolonie war dominant.

¹⁾ Guilliermond, A. Considération sur la sexualité de certaines Levures. C. R. Acad. Sc. Bd. 133, S. 1252, 1901.

²⁾ Barker, B. T. P. A conjugating „Yeast“-Philos. Transactions of the Royal Soc. of London. Bd. 194, S. 467, 1901.

³⁾ Winge Oe. and Laustsen, O.: On 14 new yeast types, produced by hybridization. Compt. rend. d. Trav. Lab. Carlsberg. Bd. 22, S. 337—352, 1939 a.

⁴⁾ Winge, Oe. and Laustsen, O. *Saccharomycodes Ludwigii* Hansen, a balanced heterozygot. Compt. rend. d. Travaux d. Laboratoire Carlsberg. serie phup. Bd. 22, S. 357—371, 1939.

c) Der biologische Kreislauf der Hefe in der freien Natur und unter den Bedingungen der Weinkellerwirtschaft

Während die früheren Weilmikrobiologen die Weinhelen fast ausschließlich von morphologischen Gesichtspunkten aus betrachteten, ist in der Neuzeit die biologische und biochemische Betrachtungsweise in den Vordergrund getreten. Wir wissen heute, daß eine Hefeart und Heferasse nicht ihr ganzes Leben lang eine bestimmte Gestalt beibehält, sondern daß ihre Gestalt erheblichen Wandlungen, und zwar immer wiederkehrenden, also gesetzmäßigen Gestaltswandlungen, unterworfen ist. Die Gestalt der Hefezellen ist für den modernen Mikrobiologen keine Erscheinung an sich, sondern eine Erscheinung innerhalb des Lebenskreislaufes, sozusagen ein Ausschnitt aus dem Ablauf eines Filmes. Wie die Kreisläufe der Hefe sich in der freien Natur und im Weinkeller abwickeln, zeigt am besten folgendes Schema:

In der freien Natur	Im Weinkeller	
	mit Luftzutritt (offene Gärung)	ohne Luftzutritt (geschlossene Gärung)
Sprossung alkoholische Gärung, sofortiger Übergang zum oxydativen Stadium, Veratmung und Verbrauch des Alkohols zur Fett- synthese, Sporulation.	Sprossung, alkoholische Gärung, Sedimentation der Gärungspopulationen, neue Sprossung auf der Weinoberfläche, Oxydatives Stadium, Rückgang des Alkohols und der flüchtigen Säuren, Desacetification, Aldehydification, Fettsynthese, Sporulation.	Sprossung, alkoholische Gärung, Sedimentation der Gärungspopulationen, kurzes Ruhestadium, Absterben. — — — —

Das Schema zeigt, daß bei geschlossener Gärung, d. h. unter Abschluß von Luft, nur ein Teil des Lebenszyklus der Hefe zur Abwicklung kommen kann. Die hier vom Menschen realisierten Daseinsbedingungen ermöglichen der Hefe keine ausreichende Fettsynthese und die Erzeugung von Sporen.

Bei offener Gärung, so wie sie in südlichen Ländern üblich ist, wickelt sich der ganze Zyklus, vorausgesetzt, daß die Alkoholerzeugung nicht 15—16 Vol. % übersteigt, ab, wenn auch in langsamerem Tempo. Letzteres ist um so schneller, je niedriger der Alkoholgehalt ist.

Die Generationen des oxydativen Stadiums bilden zunächst am Rande der Weinoberfläche einen sog. „Hefering“, von dem aus auch auf der Weinoberfläche selbst Inseln entstehen, die sich zu einer kompletten Decke schließen können. Die eine Heferasse kommt schneller, die andere langsamer in das oxydative Stadium, die eine ist nur zur Ringbildung, die andere nur zur Bildung kleiner schwimmender Inseln befähigt. Andere wiederum bilden

schnell dichte, gerunzelte, geschlossene Hefedecken, die in Spanien „Weinblüte“ (flor del vino) genannt werden. In den Heferingen und Hefedecken kommt es häufig zur Bildung der Dauerorgane, der Sporen. Somit schließt sich bei offener Gärung und unter Einwirkung der Luft der Lebenskreislauf der Hefe, wie in der freien Natur. In Sporenform vermag die Hefe lange Zeit ungünstige Bedingungen zu überdauern. Aber nicht nur die Hefesporen sind sehr viel länger lebensfähig als die Zellen der Gärungsphase, sondern auch die stark verfetteten Zellen der oxydativen Phase. Solche Zellen mit fettinkrustiertem Protoplasma können daher als eine Art von Dauerzellen betrachtet werden.

Im oxydativen Stadium findet auch vielfach eine andere Art der Sprossung statt. Eine Rasse, welche in der Gärungsphase mit ovalen Zellen nur an deren polaren Enden sproßt, bildet oft im Deckenstadium kugelrunde, auf

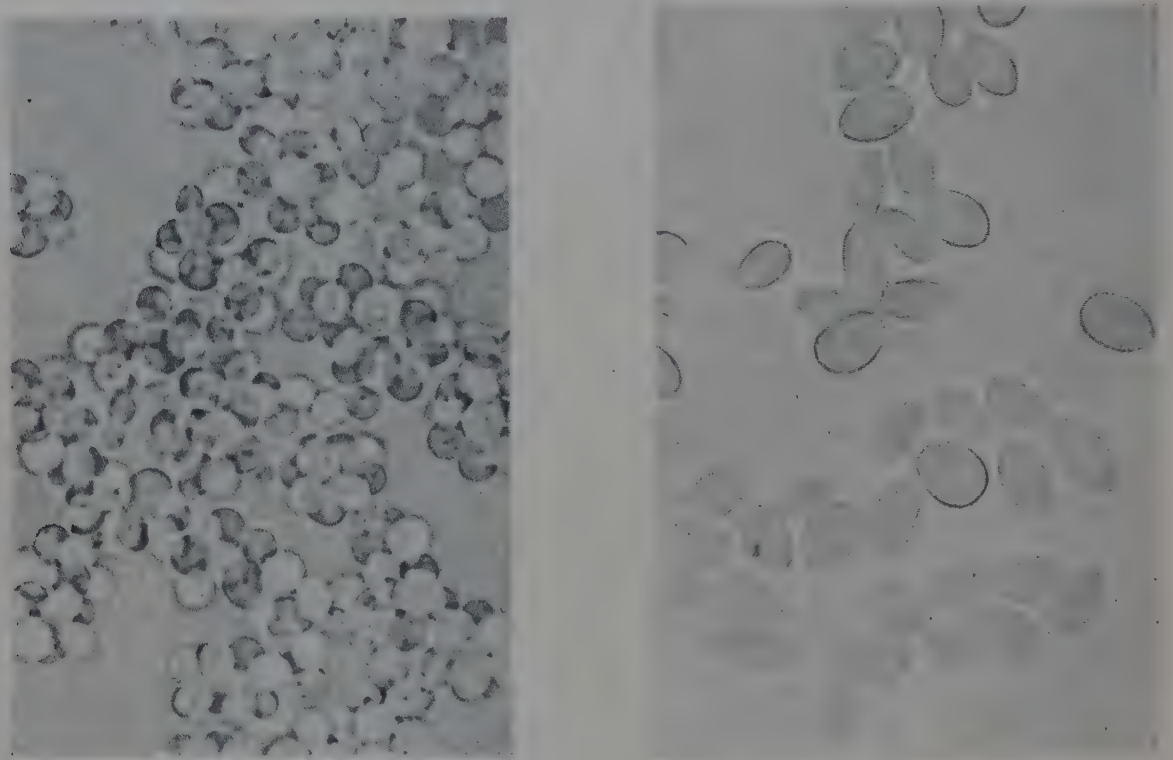


Abb. 11. *Saccharomyces cerevisiae*. Links haploide Zellen = Kurztriebwachstum. Rechts diploide Zellen = Langtriebwachstum. (Nach Winge.)

sämtlichen Seiten sprossende Zellen. Winge hat diese für haploide Hefezellen charakteristische Sprossungsart „Kurztriebwachstum“ genannt. Andere Rassen wiederum bilden in der Gärungsphase runde bis ovale Zellen, im oxydativen Stadium längliche, wurst- bis hyphenförmige Zellen.

Von biologischen Gesichtspunkten aus ist eine der wichtigsten Erkenntnisse der letzten Jahrzehnte diejenige Winges (1940), daß die Hefen haploid, diploid und polyploid sein können, daß Diploidisierungs- und Polyploidisierungsvorgänge abwechseln und daß daher ein Formenwechsel auftreten kann. Die Sporenbildung ist als Haplophase bzw. als Haploidisierung aufzufassen. Aus einer Spore entsteht zunächst nur eine haploide Zelle bzw.

eine haploide Kultur, welche nicht zur Sporenbildung befähigt ist. Sporen kann nur eine diploide oder polyploide Hefezelle bilden.

Die Diploidisierung kann schon im Askus (= Sporenschlauch) stattfinden. Bei bestimmten Hefegattungen, z. B. *Saccharomyces*, ist dies sogar die Regel. Von den 4 Sporen einer Zelle der Gattung *Saccharomyces* müssen je 2 geschlechtlich anders gestimmt sein. Wenn man bei niederen Pflanzen noch keine ausgesprochenen Geschlechtsmerkmale, weibliche oder männliche, feststellen kann, sondern nur zweierlei „Stimmung“, so sind von Blakeslee 1914 die Verzeichen + und – eingeführt worden. Man spricht heute bei *Macoraceen* von + Myzel und – Myzel. Wir müssen bei den Hefen ebenso verfahren. Im *Saccharomyces*-Askus finden wir 2 Minus- und 2 Plussporen. Im Askus von *Saccharomyces* kopuliert ein Plus- und Minus-Sporenpaar. Aus ihnen geht bei der Keimung sogleich eine diploide Zelle hervor.



Abb. 12. Diploidisierungsvorgänge unter Bildung von U- und V-förmigen Zellzygoten innerhalb einer Kolonie haploider, aus Sporen hervorgegangener Zellen von *Saccharomyces cerevisiae*. (Nach Winge.)

Bei den meisten Hefen keimen die Sporen einzeln aus und die daraus hervorgehenden haploiden Zellen kopulieren später, sofern eine + und eine – Zelle sich trifft. Es kommt dann zu einer Zellzygote. Die beiden vegetativen Zellen legen sich in einen typischen Winkel von 90–110° zusammen. An diesem typischen Kopulationswinkel sind bei Hefen diese Vorgänge leicht zu erkennen. An der Berührungsstelle wird die Zellwand aufgelöst, es entstehen joch- oder u-förmige Gebilde, die sich allmählich strecken. Manchmal deutet nur mehr die Form einer etwas gekrümmten Wurst den vorher stattgefundenen Verschmelzungsvorgang an.

Derartige Jochfiguren hat man schon früher an Hefen beobachtet und daher für diese Hefen eine eigene Gattung, nämlich *Zygosaccharomyces* (griech. zygos = Ochsenjoch) aufgestellt. Die *Zygosaccharomyces*-Arten sind aber nichts anderes als in haploider Form wachsende *Saccharomyces*-Arten. Die Gattungsbezeichnung *Zygosaccharomyces* ist daher heute veraltet und nicht mehr berechtigt.

Es spielen sich aber bei den Hefen nicht nur offensichtliche Diploidisierungs-, sondern auch Tetraploidisierungs-, kurzum Polyploidisierungsvorgänge ab, wie Ottorino Agostini kürzlich an *Brettanomyces* nachweisen konnte. (Siehe Seite 95.) Die Vielgestaltigkeit (Polymorphismus) der Hefen ist nur von diesen Gesichtspunkten aus verständlich.

Die Bierbrauer haben früher geglaubt, eine Infektion mit sog. „wilder Hefe“ innerhalb ihrer Kulturhefe mittels eines Sporulationsversuches ausfindig machen zu können. Man nahm früher irrtümlicherweise an, daß nur „wilde“ Hefen Sporen zu bilden vermöchten und Unfähigkeit zur Sporenbildung ein Charakteristikum der Kulturhefe wäre. Fand man also innerhalb der Kulturhefe Asci mit Sporen, so sagte man, sie wäre von außen durch „wilde“ Hefen infiziert worden. Diese Ansichten mußten in der Neuzeit korrigiert werden. Eine Hefe bildet dann keine Sporen, wenn sie haploid und sozusagen „eingeschlechtlich“ (+ oder —) ist. Diploide Heferassen können unter entsprechenden Bedingungen ohne weiteres Sporen bilden und haploide nach einer Diploidisierung, d. h. nach einer Konjugation einer + und einer — gestimmten haploiden Zelle.

3. Isolierung und Reinkultur von Hefen

Um zu einem Hefestamm, einer Rasse oder einem Klon zu gelangen, muß man von einer einzigen Hefezelle ausgehen. Ja, um zu einer absolut rein-erbigen (homozygoten) Rasse zu gelangen, muß man sogar von einer haploiden Zelle oder Spore ausgehen. Man kann sich dazu folgender Methoden bedienen.

a) Die Kochsche Plattengußmethode

Man bereitet sterile Petrischalen und Reagenzgläser mit etwa 10 cm sterilem Most- oder Würzeagar vor. Letzterer wird im Wasserbad bis zur völligen Verflüssigung erhitzt. Unterdessen hat man mit dem Ausgangsmaterial (Hefetrub, Wein, gärender Most, Erdaufschwemmung usw.) eine Verdünnung 1:100 oder 1:1000 (je nach Zellendichte des Ausgangsmaterials) mit sterilem Wasser oder Traubenmost hergestellt. In verschlossenen Blechbehältern liegen frisch sterilisierte Mikropipetten mit Gradeinteilungen von 0,1 cm bereit. Mit letzteren entnimmt man den Verdünnungsaufschwemmungen einige Kubikzentimeter, hebt den Deckel einer Petrischale nur so weit hoch, daß man mit der Pipettenspitze in die Schale 1 Tropfen oder 0,05 cm der Aufschwemmung geben kann. In die 2. Schale gibt man die doppelte, in eine dritte die dreifache Menge der Verdünnung. Unterdessen ist der flüssige Agar auf 30—35° C abgekühlt, aber noch gut flüssig. Nach Abflammen des Wattebausches und leichter Erhitzung des Reagenzglasrandes kippt man schnell, aber vorsichtig den Agarnährboden in die Petrischale, von der man den Deckel wiederum nur so weit anhebt, als zum Eingießen des Nährbodens unbedingt notwendig ist. Man achte darauf, daß der Rand der Petrischale sauber und frei von Agar bleibt. Sowie der letzte Tropfen des flüssigen Nährbodens in der Petrischale ist, schließt man den Deckel und dreht die Petrischale so, daß der Agar im ganzen Schalenboden und mit ihm die eingeführten hefehaltigen Tropfen gleichmäßig verteilt werden. Sodann legt man die Petrischale auf eine horizontale Unterlage. Als bald erkaltet der Agar und wird wieder steif. Dadurch werden die nun in ihm liegenden einzelnen Hefezellen an dem Ort festgehalten, wo sie sich gerade beim Übergang des Agars von der flüssigen in die steife Phase befanden. Aus jeder solchen Zelle wird im Laufe von einigen Tagen (Zeitdauer ist von der Bebrütungstemperatur abhängig) eine Kolonie, die dem bloßen Auge als heller Tupfen sichtbar wird.

Die Verdünnung und die ganze Prozedur ist dann richtig gemacht, wenn jede Kolonie noch nach einigen Tagen von der Nachbarkolonie so weit entfernt ist, daß man mit der Impfnadel ohne Gefahr der Berührung der Nachbarkolonie an sie herankann. Es schadet nichts, wenn die Entfernung zur nächsten Kolonie 1—2 cm beträgt.

Dagegen ist die Prozedur als mühsam anzusehen, wenn gleich die ganze Agaroberfläche mit so zahlreichen Kolonien besetzt ist, daß man an keine herankann, ohne dabei an die Nachbarkolonie zu stoßen.

Dann muß der ganze Arbeitsvorgang mit starkerer Verdünnung des Ausgangsmaterials wiederholt werden. Die Kochsche Plattenmethode bietet zunächst keine Garantie, daß die aus einer Kolonie abgeimpfte Hefe tatsächlich aus einer einzigen Zelle entstanden ist. Für strenge wissenschaftliche Anforderungen genügt diese Methode nicht. Sie ist aber sehr praktisch, um überhaupt einmal die verschiedenen Hefegattungen, Arten, Bakterien und Schimmelpilze einer Reife- oder Ausgangskultur voneinander zu trennen. Für praktische Zwecke genügt jedoch diese Art der Isolierung vollständig. Ist es aber erforderlich und wünschenswert, von einer einzigen Zelle auszugehen, so benutzt man anschließend die Lindnersche Tröpfchenmethode.

b) Die Lindnersche Tröpfchenmethode

Dazu benötigt man: eine frische Tuschefeder, ein sauberes, durch Alkoholbad entfettetes Deckgläschen, sterilisierte feine Filtrierpapierstreifen in einem Wägegläschen und eine sog. feuchte Kammer. Letztere besteht entweder aus einem hohlgeschliffenen Objektträger oder einem Objektträger mit aufgeschmolzenem oder aufgekittetem 4—5 mm hohen Glasring.

Man stellt sich zunächst mit Most oder sterilem Wasser eine Verdünnung des Ausgangsmaterials (Sporen oder Zellen) her. Sodann zieht man das Deckgläschen einigemal durch die Gasflamme, taucht die ebenfalls in der Flamme steril gemachte Tuschefeder in die verdünnte Hefeaufschwemmung und macht damit schnell hintereinander 10 kleine winzige Tröpfchen auf das Deckglas, 2 Reihen zu je 5 Tropfen, kippt das Deckgläschen schnell um und setzt es auf die feuchte Kammer, an deren Grund man vorher steriles Wasser gebracht hat.

Nun mustert man unter dem Mikroskop alle 10 Tropfen durch und merkt sich Genjengen oder diejenigen, die nur eine einzige Hefezelle oder Hefespore enthalten. Stellt man fest, daß sämtliche Tropfen mehr als eine Hefezelle oder Spore enthalten, steigert man entsprechend nochmals die Verdünnung und wiederholt die ganze Prozedur so lange, bis Tröpfchen mit nur einer Zelle festzustellen sind.

Stellt man schließlich fest, daß z. B. der 3. Tropfen von links in der ersten Reihe nur eine einzige und anscheinend lebendige Hefezelle (oder Spore) enthält, so entnimmt man mit einer frisch abgeflammt Pinzette dem bereitstehenden Wägegläschen einen feinen Streifen sterilen Filtrierpapiers, saugt nach Abheben des Deckgläschens von der feuchten Kammer den Tropfen von unten her auf und wirft diesen Streifen in einen bereitstehenden sterilen Most. Statt Papierstreifen kann man auch kurze, sterile Glaskapillarstückchen verwenden. Da es vorkommen kann, daß der Tropfen wohl aufgesogen wurde, aber die Hefezelle am Deckgläschen haften blieb, macht man diesen Versuch mit mehreren Tröpfchen.

c) Die vereinfachte Lindnersche Tröpfchenmethode nach Velimir Vučković¹⁾

Während nun nach der Lindnerschen Vorschrift die Verdünnung so lange fortgesetzt werden muß, bis man Tröpfchen mit nur einer einzigen Zelle vorfindet, kann man nach der Modifikation der Tröpfchenmethode von V. Vučković (oenologische Station in Vršac-Jugoslavien) auch von Tröpfchen mit 2, 3 und 4 Zellen ausgehen.

Man punktiert mit einer sterilen Tuschefeder auf ein nicht entfettetes steriles Deckgläschen einen einzigen oder wenige Tropfen, dafür etwas weiter

¹⁾ Vučković, V. Eine Vereinfachung der Lindnerschen Tröpfchenmethode. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abt. II Bd. 99, S. 32—34, 1938.

auseinander, und durchmustert sie in feuchter Kammer unter dem Mikroskop. Stellt man z. B. fest, der eine Tropfen hat 3, der andere 4 Zellen, so nimmt man mit einer Platinöse voll Traubenmost den einen Tropfen auf und streicht damit über einen schief gelegten festen Nährboden in einem Reagenzglas. Hat man alle 3 Zellen erfaßt, so müssen auf dem festen Nährboden in dem einen Falle 3, in dem anderen Falle 4 Kolonien entstehen, die in der Regel so weit auseinander liegen, daß man bequem an jede mit einer Impfnadel herankam.

Man kann also mit dieser von Vučković variierten Methode auf einen Schlag gleich mehrere Einzelkulturen gewinnen, dazu in kürzerer Zeit, und man kann mit ihr gleichzeitig kontrollieren, ob man den Tropfen richtig beobachtet und alle Zellen richtig gezählt hat.

d) Die Isolierung mit Hilfe eines Mikromanipulators

Die optischen Firmen Zeiß und Leitz haben Hilfsvorrichtungen konstruiert, die es gestatten, mit Hilfe von feinmechanisch bewegten feinsten Glaskapillaren aus einem Tropfen unter dem Mikroskop einzelne Mikrobenzellen zu isolieren. Der Umgang mit solchen Mikromanipulatoren will aber gelernt und geübt sein, und es rentiert sich in der Praxis eines mikrobiologischen Labors nicht, eigens wegen der Isolierung einer Hefe diese Apparatur in Tätigkeit zu setzen. Man kommt hier ohne weiteres mit den 3 vorher genannten Methoden schneller ans Ziel. Dagegen kann ein Mikromanipulator für gewisse Arbeiten, z. B. Trennung und Isolierung der 4 Sporen aus dem Askus einer Hefe, nicht entbehrt werden. Dieser Methode hat z. B. Winge seine hervorragenden Erfolge der Hefezüchtung zu verdanken.

Die Isolierung und Kultur von Hefen aus einer Platten- oder Tröpfchenkultur hat man früher „Hefereinzucht“ oder „Hefezüchtung“ genannt.

In der Neuzeit versteht man jedoch unter „Hefezüchtung“ etwas anderes. Was wir bis jetzt getrieben haben, war nach modernen Begriffen lediglich Klonenselektion. Unter „Züchtung“ versteht man heute die Erstellung neuer Pflanzentypen auf dem Wege der Hybridisation.

Als ersten gelang den Dänen Winge und Laustsen¹⁾ 1938 die echte Züchtung neuer Heferassen durch Hybridisierung. Nach ihnen berichtete 1939 der Japaner Yamamoto²⁾ über eine gelungene Hybridisierung zweier Sakéheferassen nach der Methode von Winge und Laustsen.

Winge und Laustsen brachten 1938 mit Hilfe eines Mikromanipulators in einem Tropfen Nährflüssigkeit unter dem Mikroskop je eine, vorher mit derselben Apparatur isolierten Spore von *Saccharomyces cerevisiae* mit einer isolierten Spore von *Saccharomyces validus* zusammen und beobachteten sie. In einem Falle keimten die Sporen gleichzeitig und bildeten eine Zellzygote. Letztere wurde die Stammpflanze des ersten von Menschenhand erzeugten Hefebastards. Die Kolonien dieses neuen Artbastards stellten im Vergleich zu seinen Eltern eine Zwischenform dar. Der Bastard bildete willig Sporen, die aber schlecht keimten und selten miteinander kopulierten. Einzelsporenkulturen des Hybriden zeigten starke Aufspaltung. Die daraus hervorgegangenen Zellen waren homozygot (also gleicherbig) und schwachwüchsig.

¹⁾ Winge, Oe. and Laustsen, O. Artificial species hybridization in yeast. C. r. Trav. Labor. Carlsberg (Dän.), sér. physiol Bd. 22, S. 235—244, 1938.

Winge, Oe. Über die Herstellung neuer Hefetypen durch Kreuzung. Wschr. Brauerei, S. 265—267, 1938.

²⁾ Yamamoto, Y. Varietal hybrids in Japanese sake yeast. (Japan). J.J.G. Bd. 15, S. 353—355, 1939.

Auch in physiologischer Hinsicht zeigte die von Winge und Laustsen gewonnene Hefeform deutlich Bastardnatur, und zwar Heterosis, d. h. sie war leistungsfähiger als die Eltern. Während der eine Elter in 9%iger Wurze 63,9%, der andere Elter 57,7% des Zuckers vergor, setzte der Bastard im gleichen Substrat 72,2% des Zuckers zu Alkohol um. 1939 berichteten Winge und Laustsen über neue Hybriden, die sie mit ihrer Methode herstellten, und zwar sogar von Gattungshybriden. Sie kreuzten *Saccharomyces cerevisiae*, *S. italicus*, *S. validus*, *S. mandschuricus* und *Zygosaccharomyces priorianus* untereinander. Die Hybriden zeigten wiederum häufig geringes Sporenkeimvermögen. In allen Fällen war das Zuckervergärungsvermögen dominant, d. h. wenn der eine Kreuzungspartner das Vermögen hatte und der andere nicht, so hatte es stets der Bastard.

Abb. 13. Die Herstellung eines Hefebastards.

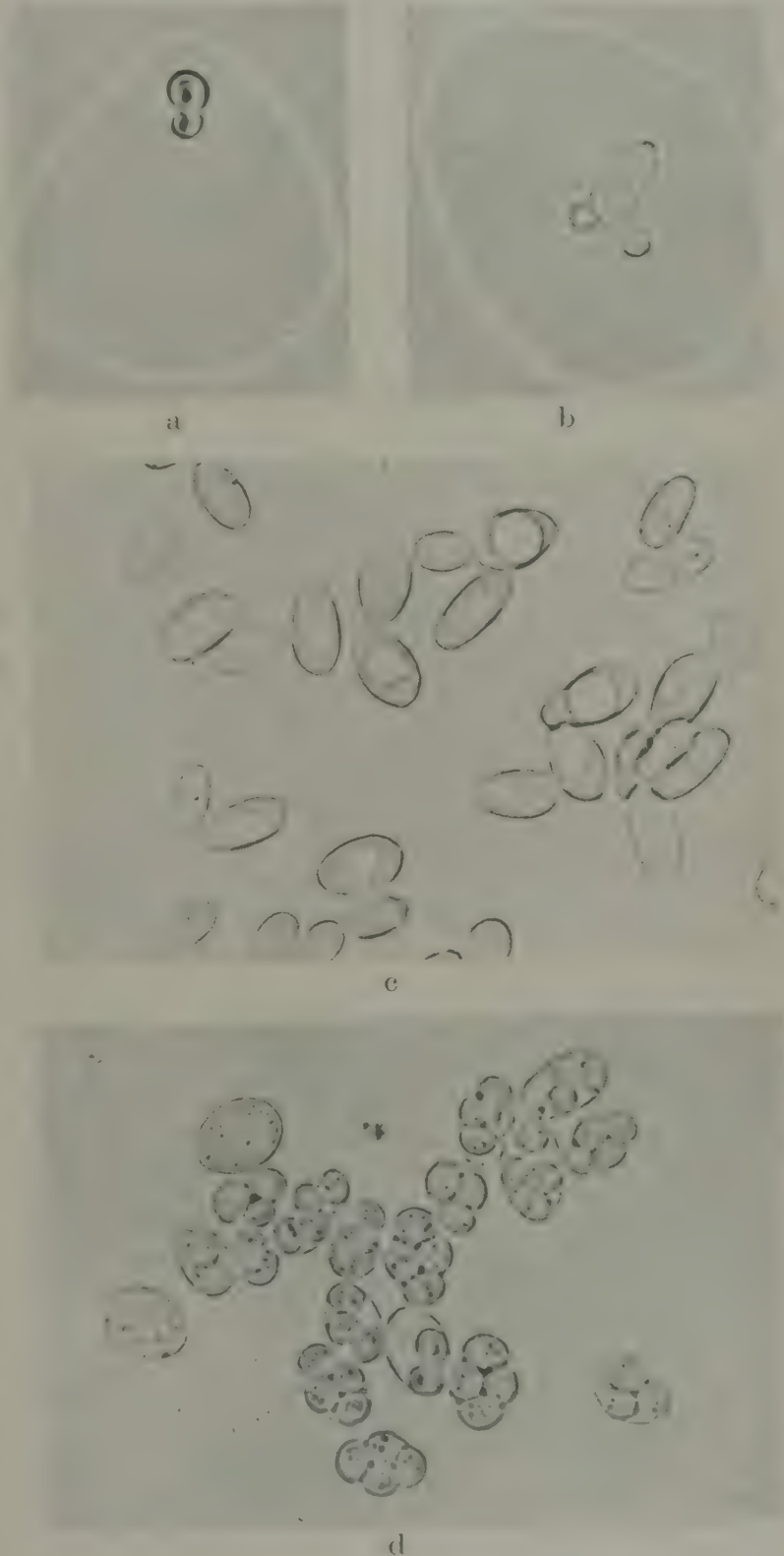
a Mit Hilfe eines Mikro-manipulators sind in einen Hängetropfen unter dem Mikroskop 2 Sporen zusammengebracht worden. Die größere stammt von *Sacch. cerevisiae*, die kleinere von *Sacch. validus*.

b Beide Sporen haben kopuliert und eine Zygote gebildet, welche eben zu sprossen beginnt.

c Aus der Zygote hervorgegangene Zellen des neuen Hefebastards.

d Der Bastard in Sporenbildung. Man sieht hier sehr schön die jeder Sporulation vorausgehende Chondrioschisis und Chondriokinesis in den Zellen.

(Nach Winge und Laustsen.)



4. Die Biochemie der Hefen

Die Enzyme oder Fermente der Hefen

Nach R. Abderhalden¹⁾ sind Enzyme oder Fermente Stoffe, welche durch ihre bloße Anwesenheit die Richtung und Geschwindigkeit chemischer Umsetzungen bestimmen. Sie können auch als organische Katalysatoren bezeichnet werden und entstehen nicht von sich aus, sondern werden von den lebenden Zellen gebildet.

Wir wissen heute, daß die meisten Fermente aus zwei Teilen bestehen, dem sog. Apoferment und dem Co-Ferment (oder Co-Enzym). Beide zusammen bilden das Holoferment (holos = ganz).

Jeder Teil ist für sich allein unwirksam und kann nur in Verbindung mit dem anderen wirken. Das Apoferment ist ein hochmolekularer Eiweißkörper, der bestimmt, welcher Stoff, z. B. Fett, Kohlehydrate oder Eiweiß, angegriffen wird. Das Co-Ferment ist von einfacher Struktur, daher durch Dialyse vom Apoferment trennbar und ist bestimmend dafür, wie der abzubauen Stoff angegriffen wird, z. B. ob er dehydriert wird, ob CO₂ abgespalten wird oder Säure-Amidbindungen gelöst werden.

Die Namen der Enzyme oder Fermente enden mit „ase“, und zwar wird diese Endung an den Wortstamm des Substrates angehängt, das das betreffende Enzym aufspaltet, z. B. das Enzym, das den Rohrzucker, die Saccharose, spaltet, heißt Saccharase, das die Maltose spaltende Enzym Maltase usw.

Die Enzyme können nach verschiedenen Gesichtspunkten eingeteilt werden. Am übersichtlichsten ist die Einteilung der Enzyme in zwei große Gruppen: A. die Hydrolasen, B. die Desmolasen.

Die Hydrolasen zerlegen lediglich höhermolekulare Stoffe in ihre Bausteine, die Desmolasen (von desmôs = Band und lyein = lösen) dagegen greifen die Bausteine selbst an. Die Hydrolasen (hydor = Wasser, lyein = lösen) haben ihren Namen daher, daß ihre Arbeit mit Anlagerung von Wasser eingeleitet wird. Daher spricht man hier auch von Hydrolyse.

Die bisher in Hefen nachgewiesenen Enzyme teilen wir am besten auch in die eben angeführten 2 großen Gruppen ein.

a) Die Hydrolasen

In die Gruppe der Hydrolasen gehören:

1. Glykogenase. Dieses Enzym vermag das hochmolekulare Kohlehydrat, Glykogen (die Leberstärke), das nur aus Traubenzuckermolekülen besteht, zu spalten. Es spielt bei der Selbstgärung und Autolyse der Hefe eine Rolle, sowie in Hungerzeiten, in denen die Hefe das Glykogen als Reservestoff benutzt und es mit Hilfe des Enzyms Glykogenase in Traubenzucker abbaut, der als Atmungs- und Energiematerial dient.

2. Invertase oder Saccharase. Dieses Enzym fehlt den Apiculatushefen und Torulopsis-Arten. Es verwandelt Rohrzucker in Trauben- und Fruchtzucker nach der Formel:



Das Optimum der Wasserstoffionenkonzentration liegt für dieses Enzym im pH-Bereich 3,5—5,5, das Temperaturoptimum zwischen 55—60° C., über 60° C tritt eine rasche Zerstörung dieses Enzyms ein.

¹⁾ Abderhalden, R. Vitamine, Hormone, Fermente. 2. Aufl. Urban & Schwarzenberg, Berlin 1944.

3. Maltase. Auch dieses Enzym geht den Apiculatushefen ab, alle anderen Hefen besitzen es. Es spaltet Maltose in 2 Moleküle Traubenzucker nach der Formel:



4. Lactase. Dieses Enzym weist nur *Saccharomyces lactis*, die Milchezuckerhefe, auf. Es spaltet Milchezucker in je 1 Molekül Galactose und Glucose. Die Hefelaktase hat ihr pH-Optimum bei 7.

5. Melibiase, spaltet Melibiose in Traubenzucker und Galactose. Kommt in untergärigen, nicht dagegen in obergärigen Bierhefen vor.

6. Raffinase spaltet Raffinose in Fructose und Melibiose.

7. Trehalase spaltet das in Pilzen und in Manna vorkommende Disaccharid Trehalose in 2 Moleküle Traubenzucker. In verschiedenen Hefen vorkommend.

8. Lipasen sind Enzyme, welche die Synthese bzw. Hydrolyse von Fetten, d. h. von Glyzerinestern, vollziehen. Diese Fermente müssen vor allem im oxydativen Stadium der Hefen eine Rolle spielen, wo Alkohol verestert und Fettsäuren synthetisiert werden. Bei den Hefen ist diese Enzymgruppe noch wenig untersucht.

9. Phosphatase ist ein Enzym, das Phosphorsäure an organische Verbindungen anlagert oder abspaltet. Da bei der alkoholischen Gärung Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsvorgänge eine wichtige Rolle spielen, müssen alle zur alkoholischen Gärung befähigten Hefen dieses Enzym aufweisen.

10. Die Sammelgruppe der sog. Proteasen oder eiweißspaltenden Enzyme. Diese Enzyme spielen sowohl beim Eiweißaufbau wie beim Abbau eine Rolle. Sie lösen nur die säureamidartige Bindung ($-\text{NH} - \text{OC}-$), wodurch die Aminosäuren miteinander verbunden sind. Die Lösung jeder Bindung erfordert ein Molekül Wasser.

In Hefen sind bisher folgende Proteasen nachgewiesen worden:

- a) Proteinasen bauen die aus vielen 100 bis 1000 Aminosäuren bestehenden Eiweißkörper bis zur Peptidstufe ab oder verknüpfen Peptide zu Proteinen.
- b) Aminopolypeptidase hydrolysiert die Polypeptide vom Tripeptid aufwärts unter der Voraussetzung der Anwesenheit einer freien Aminogruppe (NH_2), an der das Ferment angreift.
- c) Dipeptidase vermag nur Dipeptide zu spalten.
- d) Nuclease spaltet Nucleinsäure zuerst in Nucleotide, diese dann in Nucleoside und Phosphorsäure, die Nucleoside wiederum in die Kohlehydratgruppe und Pyrimidin bzw. Purinrest.

b) Die Desmolasen der Hefen

Die wichtigste Desmolase der Hefe ist die Zymase, die, wie wir heute wissen, einen ganzen Enzymkomplex darstellt. Jedes Teilenzym arbeitet an einer ganz bestimmten Strecke der Kettenreaktion.

Zunächst muß das Co-Enzym, die Co-Zymase, den ganzen Zymasekomplex aktivieren. Das erste Teilenzym ist die Phosphatase, welches die Phosphorylierung der Hexose vornimmt. Dann tritt die Zymohexase in Tätigkeit, welche das Hexosediphosphorsäuremolekül in 2 Teile sprengt. Sie ist eine typische Desmolase, indem sie die Kohlenstoffkette in 2 Teile sprengt, wodurch sog. „hälftiger“ Zucker mit nur 3 Kohlenstoffatomen, die Triosephosphorsäure, entsteht.

Nun greift die Reduktase oder Dehydrase ein, welche eine Oxydoreduktion oder Cannizzaro-Reaktion herbeiführt. Die Phosphatase dephosphoryliert die Phosphorglyzerinsäure, wodurch Brenztraubensäure entsteht. Eine Carboxylase sprengt von letzterer eine Carboxylgruppe ab, wodurch CO_2 frei wird und Acetaldehyd entsteht. Eine Aldehyddehydrase hydriert Acetaldehyd zu Alkohol.

Das Zusammenspiel all' dieser Teilenzyme bewirkt das, was wir alkoholische Gärung nennen.

Zu den Desmolasen wird weiterhin das 1921 von Neuberg und Hirsch in der Hefe entdeckte synthetisierende Enzym Carboligase gerechnet. Es verknüpft Verbindungen mit geraden Kohlenstoffketten, z. B. 2 Moleküle Acetaldehyd mit sich selbst ($\text{CH}_3\text{CHO} + \text{CH}_3\text{CHO} = \text{Methylacetylcarbinol}$).

Hierher gehört auch die ebenfalls in Hefe festgestellte Katalase, welche aus Wasserstoffsuperoxyd Sauerstoff abzuspalten vermag. Man nimmt an, daß durch die Katalase das bei Oxydo-Reduktionsprozessen auftretende H_2O_2 unschädlich gemacht wird.

Die hier aufgeführten, in Hefe vorkommenden Enzyme sind gewiß noch nicht alle, welche die Hefe zu aktivieren vermag. Die Zukunft wird gewiß noch mehrere bisher unbekannte Hefeenzyme an das Tageslicht fördern.

Die Vitamine und Wuchsstoffe der Hefen

Zwischen Vitaminen, Hormonen, Wuchsstoffen und Enzymen können nach unserem heutigen Wissen nicht mehr die strengen Unterschiede wie früher gemacht werden. Man faßt sie heute unter der Sammelbezeichnung Wirkstoffe (Ergine) oder Biokatalysatoren zusammen. Man hat sie wieder zu unterteilen versucht in Enzyme als Katalysatoren, die auf unbelebte, rein chemische Vorgänge beschleunigend wirken und Ergone als Reizstoffe, die nur auf belebte Systeme wirken. Zu letzteren würden die Vitamine, Hormone und schließlich auch die Wuchsstoffe gehören. Der Begriff Wuchsstoffe ist aber unterdessen sehr stark ausgeweitet worden. Es gibt spezifische, für das Streckungs- oder das Plasmawachstum und die Zellteilung verantwortliche Wirkstoffe.

Für eine genaue Einteilung all der Wirkstoffe ist es wahrscheinlich noch zu früh. Dauernd werden wieder neue Wirkstoffe, Vitamine usw. entdeckt. Daher halten wir uns zunächst noch an die alten Bezeichnungen.

Die Hefen stehen als Meister der Vitaminsynthese unerreicht im Pflanzenreich da. Es gibt keine Pflanze, die so viel Vitamine aufzubauen versteht, wie die Hefe. Seitdem man dies weiß, ist die Hefe im Ansehen und Wert ungeheuer gestiegen. Früher waren die in den Bierbrauereien anfallenden Hefen als Abfallstoffe behandelt und häufig infolge mangelnder Interessenten in die Abwässer geleitet worden. Heute wird die Hefe, wenigstens die Brauereihefe, nicht mehr als Abfallstoff behandelt und weggeschüttet, sondern der Volkswirtschaft für tierische und menschliche Ernährung zugeführt. Die Weinhefe fällt leider bei der Weingärung nicht so sauber und in so günstiger Beschaffenheit an, wie die Bierhefe bei der Bierbereitung. Sie ist über und über mit Trübungsbestandteilen des Mostes, ja häufig sogar mit Kupfer, das durch die Peronosporabekämpfung an die Weintrauben und in den Most gerät, beladen, so daß sich ihre Weiterverarbeitung nicht lohnt. Sie wurde bisher lediglich „abgebrannt“, d. h. der in ihr enthaltene Wein wurde destilliert.

Zwar enthält die Hefe bei weitem nicht alle für die menschliche Ernährung notwendigen Vitamine. Es fehlen die Vitamine A und C. Aber es sind bisher in ihr 19 Vitamine festgestellt worden, und die Biochemiker werden wahrscheinlich noch einige mehr in ihr finden.

Folgende Aufzählung der in Hefen festgestellten Vitamine ist dem Buch „Die Vitamine der Hefe“ von W. Rudolph (1. Auflage 1941) entnommen:

1. Vitamin B₁, Aneurin, Thiamin, Antineuritische Wirkstoff.
2. Vitamin B₂, Laktoflavin, Riboflavin, Thermostabiler Wachstumsfaktor.
3. Vitamin B₃, Taubenwachstumsfaktor, Thermolabiler Faktor.
4. Vitamin B₄, Antiparalytischer Faktor.
5. Vitamin B₅, Taubenwachstumsfaktor, Thermostabiler Faktor.
6. Vitamin B₆, Adermin, Pellagraschutzstoff (Ratte).
7. Vitamin B₇, Enterales Vitamin.
8. Vitamin B_w, Filtratwachstumsfaktor.
9. Vitamin B_x, Anti-graue-Haare-Faktor.
10. Nikotinsäure(amid), Pellagraschutzstoff (Mensch).
11. Panthothensäure, Küken-Antidermatitisfaktor, Pellagraschutzstoff (Huhn).
12. Hämogen, extrinsic factor, Antianämiefaktor.
13. Vitamin M, Aleukie verhütender Faktor, Reifungsfaktor.
14. Tropenanämie verhütender Faktor.
15. Faktor W, alcohol-ether precipitate factor, Wachstumsfaktor (Ratte).
16. Provitamine D₂ und D₃, Antirachitische Wirkstoffe (nach Bestrahlung).
17. Vitamin E, Tokopherole, Antisterilitätswirkstoffe.
18. Vitamin H, Hautfaktor, Antiseborrhoischer Wirkstoff.
19. Vitamin T, Übervitamin, Exitatin, (Erregungsstoff).

Das Vitamin A. Wie bereits erwähnt, kommt das Vitamin A in Hefen nicht vor. Im Körper der Säugetiere entsteht jedoch Vitamin A durch Spaltung des Möhrenrübenfarbstoffs Carotin (hauptsächlich Carotin β). Das Carotin ist also ein Provitamin. Es hat die Molekularformel $C_{40}H_{56}$ und ist ein Kohlenwasserstoff. Es gibt zahlreiche ähnliche Farbstoffe, die man Carotinoide nennt, wie z. B. das mit dem Carotin isomere Lycopin, der rote Farbstoff der Tomate, die gelben Blattfarbstoffe (Xanthophylle $C_{40}H_{56}O_2$), das Lutein des Eidotters, das Zeaxanthin des gelben Maises usw. Nun gibt es auch rosafarbene, nicht gärende Hefen, früher einfach als „Rosahefen“ oder *Torula rubra*, *T. rubescens*, *T. sanguinea* bezeichnet. Bei näherer Untersuchung durch Lederer¹⁾ 1934 stellte sich heraus, daß die Farbstoffe der roten Hefen ebenfalls Carotinoide sind. Lederer stellte neben β -Carotin ein neues Carotin fest, das er Torulen nannte.

Das Vitamin B₁ = Aneurin oder Thiamin.

Unter sämtlichen Pflanzen und Pflanzenprodukten steht die Hefe in bezug auf Aneuringehalt an der Spitze, und zwar die Bierhefe. Das hat seinen Grund darin, daß bei der Keimung der Gerste und aller Getreidekörner Aneurin neu entsteht. Dieses gelangt in die Bierwürze, woraus es die Hefe gierig entnimmt, obwohl sie dieses Vitamin selbst synthetisieren kann. Zu dem aufgenommenen Vitamin kommt noch von der Hefe selbst erzeugtes Vitamin B₁. Dadurch enthält die Bierhefe am meisten Vitamin B₁.

Es enthält je 100 g Trockensubstanz in γ (= 0,001 mg)

Bierhefe	1100—15000 γ ,
Bäckerhefe	600— 2000 γ ,
Holzzuckerhefe	1500— 2400 γ

Da über den Aneuringehalt von in Traubenmost oder in Wein gewachsener Hefe in der Literatur keine Angaben zu finden waren, haben wir in Geisenheim 1943 und 44 selbst Untersuchungen angesetzt.

¹⁾ Lederer, E. Sur les caroténoides de quelques Champignons. C. R. Séanc. Soc. Biol. Paris, Bd. 117, S. 1083—1085, 1934.

Wir arbeiteten mit dem von Schopfer¹⁾ (Bern) vorgeschlagenen *Phycomyces*-Wachstumstest. Die Köpfchenschimmelpilze *Phycomyces Blakesleeanus* und *Ph. nitens* vermögen selbst nicht Vitamin B₁ zu synthetisieren, benötigen es aber unbedingt zum normalen Wachstum. Sie reagieren schon auf Mengen von 0,01 γ . Auf dieser außerordentlichen Empfindlichkeit dieser Pilze gegenüber Vitamin B₁ basiert die biologische Testmethode.

Sie wurde von uns wie folgt gehandhabt:

Der Pilz wurde in einer synthetischen Nährlösung herangezogen, bestehend aus: 100 g Glucose purissimum, 0,5 g Magnesiumsulfat, 1,5 g Monokaliumphosphat, 4 g Asparagin gelöst in 1 Liter aqua dest. Die pH-Zahl lag zwischen 4,0 und 4,5.

Von dieser Nährlösung wurden in 200 ccm Erlenmeyerkolben je 25 ccm abpipettiert. 1—2 Kolben blieben als Kontrollversuch ohne Aneurinzugabe. Andere Kolben bekamen steigende Mengen von reinem Aneurin (Betabion) von 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,6; 0,8 und 1 γ aus einer Stammlösung von genau bekanntem Aneurin Gehalt. Diese Kolben waren für die bei jedem einzelnen Versuch mitlaufende sog. „Testkurve“ bestimmt.

Nach der Autoklavierung wurden die Kolben mit einer verdünnten Aufschwemmung der Sporen des Testpilzes in gleicher Weise beimpft, bei 20 bis 22 ° C 10 Tage lang bebrütet und am 11. Tage alle abgeerntet. Das Pilzmyzel wurde bei der Ernte in destilliertem Wasser von anhaftender Nährlösung befreit und in Wägegläschen bei 105 ° C 3 Stunden lang getrocknet. Aus den Erntegewichten wurde einerseits die Testkurve aufgezeichnet und aus dieser Kurve an Hand der Erntegewichte der zu testenden Objekte, wie Hefe, Most, Wein, die in genau abgemessenen oder gewogenen Mengen den *Phycomyces*kulturen zugesetzt worden waren, die Aneurin-Werte entnommen.

Die Schopfersche *Phycomyces*-Methode zur Bestimmung ist auch von chemischer Seite überprüft worden. R. Thren, der im 1. Bd. der Zeitschrift Vitamine und Hormone 1941 über kritische Versuche zum biologischen Pilztest auf Vitamin B₁ berichtete, betont, „daß er durch sinnngemäße Modifikation den verschiedensten speziellen Zwecken leicht angepaßt werden kann“ und seine außerordentliche Empfindlichkeit, die schon Vitaminmengen von 0,01 γ an mit Sicherheit festzustellen gestattet, ihn zu einer „besonders wertvollen biologischen Bestimmungsmethode, die in der deutschen Literatur noch keineswegs die Beachtung gefunden hat, die ihr zukommen dürfte“.

Dem Urteil Threns kann ich mich nur anschließen.

Nach dieser Methode stellten wir fest, daß der Aneurin Gehalt der Weinhefe, je nach ihrem physiologischen Alter, sehr verschieden ist. In Traubenmost gezogene Hefe weist während der stürmischen Gärung einen Aneurin Gehalt auf, der sich ohne weiteres mit dem der Bierhefe messen kann, nämlich 6000—11 200 γ je 100 g.

Aber nur während der Gärung weist die Weinhefe diesen hohen Gehalt auf, nach der Gärung sinkt er dauernd ab, nach 8 Monaten betrug er nur mehr 600—850 γ und im Schaumweinhefedepot, wie es bei der Flaschengärung anfällt, waren in 100 g Trockensubstanz, je nach Alter des Gelägers, nur 0—100 γ Aneurin enthalten.

Diese Befunde werden sofort verständlich, wenn man berücksichtigt, daß das Aneurin in der Hefe als Teilenzym des Zymase-Komplexes, und zwar als Co-Carboxylase bzw. als Diphosphorsäureester vorkommt. In diesem

¹⁾ Schopfer, W. Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B₁. Erg. Biol. Bd. 16, S. 1—173, 1939.

Zusammenhang sei daran erinnert, daß die Bevölkerung in gewissen Wein-
gegenden im Herbst eine besondere Vorliebe für den sog. „Sauser oder
Federweißen“ hat. In dieser Phase ist tatsächlich der Most bzw. Wein am
reichsten an Aneurin.

Der Traubenmost, wie er von der Kelter läuft, enthält nach unseren Be-
stimmungen 120—200 γ im Liter. Dieser Wert stimmt ungefähr mit dem von
Karl Rippel¹⁾ 1940 überein, der für 1 : 1 verdünnte Traubensaft nach der
gleichen Methode 4,8 internationale Vitamine B₁-Einheiten fand. Eine Vit.-
Einheit = 3 γ , also enthielt 1 Liter unverdünnter Traubensaft 268 γ .

Stellt man die von Karl Rippel 1940 und von H. Schanderl u. M. Dra-
czynski 1943/44 an den gleichen Objekten ermittelten Werte gegenüber, so
ergibt sich folgendes Bild:

In 1 Liter waren γ Aneurin enthalten:

	Rippel-Freiburg 1940	Schanderl- M. Draczynski Geisenheim 1943/44
Frischer Traubensaft	268	120—200
Trauben-Süßmost	135	27
Weißwein.	75—90	13—150
Rotwein	225	133—266

Aus beiden Untersuchungsgruppen geht übereinstimmend folgendes
hervor:

1. Der frische Traubenmost enthält mehr Aneurin als der filtrierte und
pasteurisierte Süßmost.
2. Der Rotwein enthält mehr als der Weißwein.

Letzteres kommt daher, daß der Rotwein eine Maischegärung durch-
macht, wo er länger mit Schalen und Samen in Berührung ist, die einen
wesentlich höheren Aneuringehalt aufweisen als das Traubenfleisch oder
der Traubensaft.

Das Vitamin B₁ besteht aus 2 Komponenten, von denen die eine als Thiazol,
die andere als Pyrimidin bezeichnet wird. Nun gibt es Hefen und Schimmelpilze,
welche jeweils nur die eine Hälfte des Vitamins zu synthetisieren vermögen, so
z. B. nach Schöpfer die rote Hefe (*Rhodotorula rubra*) nur das Thiazol. In
diesem Falle genügt es, der Pflanze lediglich die andere Hälfte des Vitamin-
moleküls, das Pyrimidin, zu bieten oder ihr eine andere Pflanze beizugeben,
welche die andere Hälfte des Vitamins zu synthetisieren vermag. So hat
Schöpfer ein Laboratoriumsmodell der Symbiose in den beiden Pflanzen
Rhodotorula rubra und *Mucor Ramannianus* gefunden. Impft man jede dieser
Pflanzen für sich allein in eine aneurinfreie Nährlösung, so kümmern sie. Impft
man dagegen beide zusammen in eine solche Nährlösung, so ergänzen sie sich
gegenseitig, indem die Rosahefe die Thiazolhälfte und der Schimmelpilz die Pyri-
midinhälfte des fehlenden Vitamins synthetisiert. Das Produkt dieser Symbiose
ergibt außerdem ein faltiges Gebilde von flechtenartigem Aussehen, wie es keiner
der beiden Partner herzustellen vermag.

¹⁾ Jahresbericht 1940 des Staatl. Weinbauinstituts in Freiburg i. Br. 1941.

Das Vitamin B₂ = Lactoflavin, Riboflavin, gelbes Atmungsferment

Dieses Vitamin kommt wieder, verglichen mit anderen Pflanzen, in der Hefe in erstaunlich hoher Konzentration vor. Während es in den üblichen Gemüsepflanzen nur mit 40–300 γ je 100 g Trockensubstanz enthalten ist, enthält die Hefe, bezogen auf gleiches Trockengewicht 1200–4000 γ .

Das Vitamin B₂ spielt in den Mikroben die Rolle eines wasserstoffaktivierenden Enzyms, das sie befähigt, sowohl mit als auch ohne Sauerstoff, als fakultativer Anaerobier zu leben. Es vermag den aktivierten Wasserstoff an den Luftsauerstoff oder einen anderen Akzeptor weiterzugeben.

Während die Hefen das Lactoflavin in erstaunlicher Menge zu synthetisieren vermögen, sind die echten Milchsäurebakterien und die Propionsäurebakterien dazu nicht in der Lage.

Es müßte in der Zukunft untersucht werden, ob die Milchsäurebakterien des Weines dieses Vitamin selbst synthetisieren oder ob sie es von den Hefen beziehen. Verdächtig ist jedenfalls, daß die genannten Bakterien, welche den sog. biologischen Säureabbau vollziehen, zu der Hefe in einem Metabioseverhältnis stehen (meta = nach, bios = Leben). Die Säureabbaubakterien entwickeln sich immer erst eine gewisse Zeit nach der alkoholischen Gärung, nachdem sich die Hefe sedimentiert hat, abstirbt und von ihr Stoffe in den Wein zurückdiffundieren.

Die übrigen Vitamine der B-Gruppe

Aus dieser Gruppe ist das Vitamin B₆ = Adermin oder Pyridoxin besonders wichtig. Auch hierin steht die Hefe wieder mit Höchstgehalten an der Spitze. Von Pflanzen kommen ihr nur Weizenkeime im Adermingehalt nahe, von tierischen Organen die Leber, wie folgende Zahlen zeigen:

100 g enthalten Adermin in Ratteneinheiten (1 Ratteneinheit = 7,5 γ)			
Trockenhefe	500–1000	Ochsenleber	330
Weizenkeime	500	Dorschleber	400
Haferflocken	100	Rindfleisch	130
Grünkohl	12		

Über den Wirkungsmechanismus dieses Vitamins in der Pflanze ist bisher nichts Sicheres bekannt. Sehr wahrscheinlich spielt es als Coferment oder als Baustein von Cofermenten eine Rolle.

Nikotinsäureamid = Pellagraschutzstoff

Wie Vitamin B₆ ist auch dieses Vitamin ein Pyridinabkömmling. Was bei Vitamin B₆ erst vermutet wird, ist bei diesem Wirkstoff Gewißheit: Er dient als Baustein bei wichtigen Fermenten, welche die Aufgaben haben, Wasserstoff zu entziehen und daher Dehydrasen heißen. Das Nikotinsäureamid ist eine Co-Dehydrase. Sie spielt im Kohlehydratstoffwechsel von Tier und Pflanze eine wichtige Rolle. Sie ist ein „Mit-Enzym“ jenes Enzyms, das bei der alkoholischen Gärung die Triosephosphorsäure in Phosphorglyzerinsäure überführt. Kein Wunder, daß die Gärmeisterin Hefe bevorzugt mit der Fähigkeit der Synthese dieses Wirkstoffes ausgestattet ist, wie folgende Übersicht zeigt:

100 g enthalten Nikotinsäure + Nikotinsäureamid in mg

Bierhefe, getrocknet	44	—62,5 mg
Bäckerhefe	12,0	mg
Magermilchpulver	10,5	mg
Ochsenleber	16,4	mg
Rindfleisch	3,8	mg
Sojabohne	4,9	mg
Mais	1,4	mg
Kartoffeln	1,0	mg

Der sog. „Biosfaktor“

Der Ausdruck „Bios“ wurde 1901 von Wildiers in Löwen (Belgien) geprägt und damit eine damals unbekannte wirksame Substanz, ein Phytohormon, bezeichnet, welches da sein muß, wenn eine Hefe in einem rein synthetischen Substrat normal wachsen soll. In der Zwischenzeit ist der „Rohbios“ zerlegt und nachgewiesen worden, daß er aus folgenden Substanzen besteht:

1. Bios I = Meso-Inosit
2. Bios II B = Biotin = Vitamin H
3. Bios III = Bios II A = Pantothersäure
4. Bios V
5. γ -und β -Säure.

Bios I hat sich als identisch mit dem sechswertigen, zyklischen Alkohol Inosit erwiesen. Das Kaliumsalz ist unter dem Namen „Phytin“ (Ciba) im Handel. Allein der Hefe dargeboten, ist seine Wirkung gering.

Das Biotin wird heute als ein Co-Wuchsstoff angesehen. Hefen und Hyphenpilze und vor allem Milchsäurebakterien brauchen ihn. Ein weit verbreiteter Aktivator des Pflanzenwachstums ist die Pantothersäure.

Nach R. Abderhalden weiß man über die physiologische Funktion der Pantothersäure im Organismus bis jetzt so gut wie nichts. Fest steht, daß sie für Hefe- und Bakterienwachstum unbedingt notwendig ist. Die sehr geringe

Menge von $\frac{1}{10000}$ γ pro Kubikzentimeter genügt bereits, um das Hefewachstum in Gang zu bringen. Der „Filtratfaktor“ und der „Anti-graue-Haare-Faktor“ sind als mit d-Pantothersäure identisch erkannt worden. Wegen der großen Empfindlichkeit wird die Hefe neben Milchsäurebakterien (*Streptobacterium plantarum*) als Pantothersäuretest verwendet, zumal zur Zeit noch keine quantitativ chemischen Methoden zur Pantothersäurebestimmung zur Verfügung stehen.

Aus dem „Rohbios“ sind noch Bios V, ja sogar ein Bios VII isoliert worden, die chemisch noch nicht definiert werden konnten. Die β -Säure dagegen ist bereits chemisch definiert, aber ihre Rolle als Wuchsstoff noch nicht klargestellt.

Das Glutathion

Dieser Wirkstoff ist ein aus den Aminosäuren Glykokoll, Cystein und Glutaminsäure bestehendes Tripeptid. Er stellt, wie die Ascorbinsäure und das Cystein, ein Redoxsystem dar. Es findet sich reichlich in Bierhefe vor und soll beim Kohlehydratabbau eine Rolle spielen. Weiterhin soll es in Wechselbeziehung zu der Ascorbinsäure (Vitamin C) stehen.

Von den übrigen Hefevitaminen kennen wir heute mehr die medizinische Anwendung als ihre eigentliche Rolle in der Hefe selbst. Daher seien sie hier weiter nicht behandelt. In neuester Zeit machte das Vitamin T von sich

reden, das als Übertitamin und Exitatin¹⁾ (Erregungsstoff) bezeichnet wurde. Es verursacht bei den Ameisen „Giganten“, bei den Termiten „Soldaten“, bei der Taufliede *Drosophila* „Großköpfe“. Daher wurde es scherzhaft auch „Großkopf Vitamin“ genannt. Die Ameisen gewinnen das Vitamin T aus ihren Pilzzuchten und können durch verschiedene Dosierung des Futters beliebig „Soldaten“ aus den Larven ziehen. Pilze und Hefen sind Träger dieses merkwürdigen Vitamins.

Die gewöhnlichen Pflanzwuchsstoffe Auxin a und b finden sich nur in höheren Pflanzen und sind bei niederen Pflanzen unwirksam. Bei Mikroorganismen findet sich nur das Heteroauxin = β -Indolylessigsäure. Die wachstumsfördernde Wirkung dieses Wuchsstoffes bei Hefen und Bakterien ist noch sehr umstritten. Die Wirkstoff-Forschung ist noch nicht abgeschlossen, sondern noch ganz im Fluß, und es sind auf diesem Gebiete noch Überraschungen und neue Befunde zu erwarten.

Der Stickstoffhaushalt der Hefen

Auf diesem Teil der Stoffwechselphysiologie der Hefe sind in den letzten Jahrzehnten große Fortschritte erzielt worden. Besondere Verdienste haben sich darin die Dänen Nielsen²⁾ und Hartelius erworben.

Für die Hefen ist allgemein charakteristisch, daß sie aus einfachen Ammoniumsalzen Eiweiß aufzubauen vermögen. Dieses aus rein anorganischen Verbindungen erbaute Eiweiß ist qualitativ und quantitativ normal.³⁾ Nitrate sind als N⁴⁾-Quellen für die Hefen unbrauchbar. In den letzten Jahrzehnten sind nun vor allem die Aminosäuren auf ihre Brauchbarkeit als N-Nahrung für die Hefen untersucht worden. Dabei stellte sich heraus, daß die Assimilierbarkeit einer Aminosäure von der Stellung der NH₂-Gruppe im Molekül abhängig ist. Bevorzugt werden diejenigen Aminosäuren assimiliert, bei denen die Substitution am β -Kohlenstoffatom erfolgte, während diejenigen mit Substitution am α -Kohlenstoffatom für die Hefe nicht assimilierbar sind.

Für die Assimilierbarkeit der N-Verbindungen spielt auch die Länge der Kohlenstoffketten eine Rolle. Verbindungen mit kürzerer Kohlenstoffkette und niedrigerem Molekulargewicht sind günstiger als hochmolekulare. Bei ringförmigen Verbindungen wird nur der N der Seitenkette verarbeitet. Die Hefe scheint bei gewissen N-Verbindungen intramolekulare Umlagerungen vornehmen zu können, wodurch sie dann eine Verbindung besser angreifen und aufnehmen kann.

Interessant ist, daß gewisse Aminosäuren für die Hefe die Rolle von Wuchsstoffen spielen. Allen voran β -Alanin, das bereits in einer Verdünnung

¹⁾ Goetsch, W. Vitamin T, ein neuartiger Wirkstoff. Oesterr. Zoolog. Zeitschr. Wien, I, 1946.

Entdeckung und Bedeutung des Wirkstoffes T. Revue Suisse de Zoolog. Bd. 56, 1949.

²⁾ Eine ganze Reihe von Spezialarbeiten, erschienen in Compt. rend. de travaux d. Laboratoire, Carlsberg, Bd. 22, 1937—1940.

³⁾ S. Taylor hat in neuester Zeit (J. gen. Microbiol. 3, 1949) nachgewiesen, daß *Saccharomyces cerevisiae* aus Ammoniumsalzen folgende 6 Aminosäuren zu synthetisieren vermag: Arginin, Glutaminsäure, Histidin, Lysin, Ornithin und Tyrosin. Alle 6 Aminosäuren kommen in freiem Zustand innerhalb der Hefezellen vor.

⁴⁾ N = Stickstoff.

von 1:100 wirksam ist. Insgesamt spielen 7 Aminosäuren als Hefewuchsstoffe eine Rolle: β -Alanin, Lysin, Arginin, Methionin, Asparagin und Glutaminsäure.

Nach Hartelius¹⁾ beeinflußt β -Alanin den N-Haushalt der Hefe. Es setzt den N-Gehalt der Hefesubstanz herab, während Glutaminsäure und Aneurin ihn erhöhen. Ordnet man die N-Verbindungen nach ihrer Eignung für die N-Ernährung, so kommt an die

1. Stelle: Asparagin und Asparaginsäure, an die
2. Stelle: Serin und Arginin, an die
3. Stelle: Aminocapron-, Aminovalerian-, Aminobutter-, und Aminocaprylsäure sowie Glycin, Glutaminsäure und Harnstoff.

Bemerkenswert ist, daß die Sedimentiergeschwindigkeit einer Hefe von der N-Ernährung beeinflußt wird. So fand Nielsen 1937, daß die mit Aminosäuren und Pepton ernährten Hefen sich schneller absetzten als die mit der mineralischen Stickstoffquelle $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ernährten.

Für die Senkungsgeschwindigkeit ist außerdem die Temperatur und der Wuchsstoffgehalt von Einfluß. Bei niedriger Temperatur gezogene Hefen setzten sich in Nielsens Versuchen schneller ab als bei hohen Temperaturen gezogene; die wuchsstoffarmen ebenfalls dreimal schneller als die wuchsstoffreichen.

Ferner ist erwähnenswert, daß die Stickstoffernährung das Verhältnis Atmung – Gärung beeinflußt. So bewirkte in Versuchen von Vagn Hartelius (1942) der Zusatz von β -Alanin ein Verschieben der Atmung um das Vierfache zu Ungunsten der Gärung. Die Hefe wächst bei Zusatz von β -Alanin ökonomischer, indem sie pro Gramm Zucker mehr Trockensubstanz bildet. Dieselbe Wirkung wie β -Alanin soll die Pantothensäure haben.

Während die Ernährung der Hefe mit gebundenem Stickstoff in den verschiedensten anorganischen und organischen Formen bisher ausgiebig und gründlichst studiert worden ist, hat man merkwürdigerweise die Möglichkeit der Einbeziehung des ungebundenen elementaren Stickstoffs der Luft in den N-Haushalt der Hefen bisher nur selten in Erwägung gezogen.

Zum erstenmal wurde diese wichtige Frage 1909 von dem verdienstvollen Hefekenner Zikes²⁾ aufgeworfen. Es war Zikes eine *Torula Wiesneri* dadurch aufgefallen, daß sie sich praktisch in stickstoff-freien Nährlösungen üppig entwickelte. Zikes schloß daraus, daß diese Hefe den Luftstickstoff zu Hilfe nehmen kann. Zikes hat noch keine auf Analysen gestützten Angaben über die Größenordnungen der Luftstickstoffassimilation einer Hefe machen können. Solche lieferte aber 1910 und 1912 der Amerikaner Lipman und 1911 Scheckenbach, ein Schüler des bekannten Brauereimykologen H. Will. Scheckenbach kam ebenfalls wie Zikes und Lipman zu dem Resultat, daß Hefen den Luftstickstoff in ihren N-Haushalt mit einbeziehen können. Er fand N_2 -Zunahmen bis zu 4,5 mg in 10 ccm Nährlösung.

¹⁾ Hartelius, V. Einfluß von β -Alanin und anderen Wuchsstoffen auf den Stickstoffgehalt der Hefe. Die Naturwissenschaften, 30. Jahrg., H. 43, 1942.

Der Einfluß von β -Alanin auf das Verhältnis Atmung/Gärung bei Hefe. Ebenda 30. Jahrg., H. 43, 1942.

²⁾ Die von 1909–1942 erschienene Literatur zu dieser Frage ist zitiert in: Schanderl, H., „Der elementare Luftstickstoff im Stickstoffhaushalt der Hefe“, Wochenschrift für Brauerei, 59. Jahrg., S. 59–61, 1942.

Damals glaubte man, den Beweis für die Fähigkeit der Luftstickstoffaufnahme von Mikroben nur dadurch erbringen zu können, daß man sie auf N-freien Nährlösungen — und das konnten nur synthetische sein — kultivierte. Wuchsen sie darauf nicht, so sprach man den betreffenden Mikroorganismen die Fähigkeit der Fixierung elementaren Stickstoffs ab. Heute wissen wir, daß ein Nichtwachsen einer Pflanze in einem solchen künstlichen N-freien Substrat keineswegs ein Beweis für ihre Unfähigkeit zur Angleichung von Luftstickstoff sein kann. Wir wissen heute, daß jede Pflanze, auch die kleinste, zum Wachstumsstart zunächst gebundenen Stickstoff und darüber hinaus noch eine Reihe spezifischer Wuchsstoffe braucht.

An diesen Tatsachen mußten viele Versuche scheitern, und so ist es verständlich, daß diese bedeutsame Frage in den Anfangsstadien ihrer Bearbeitung stecken blieb. Sie stieß zunächst auf erhebliches Interesse, gerade unmittelbar vor dem 1. Weltkrieg. So beteiligten sich an der Klärung dieser Frage Paul Lindner, Neumann und Kossowicz, ohne eine solche herbeiführen zu können. Nach dem 1. Weltkrieg tauchte diese Frage wieder auf. Fulmer und Christensen brachten 1923 und 1925 neues Tatsachen-, vor allem Analysenmaterial. Sie arbeiteten nicht mit synthetischem N-freiem Nährsubstrat, sondern schon mit natürlichen, N-armen Nährmedien (Zuckerrohrmelasse) und fanden ebenfalls, daß ihre Kulturen am Schluß der Versuche mehr Gesamtstickstoff aufwiesen als vor der Impfung mit gewöhnlicher Bäckerhefe. Sie stellten damals sogar schon das pH-Optimum für die N₂-Bindung fest, nämlich pH 7,9.

Da die Zoologen in Käferlarven mit Hefen erfüllte Symbioseorgane festgestellt und sich die Frage nach dem Sinn und Zweck dieser Symbiose mit Hefen bei Insekten vorgelegt hatten, waren auch diese an der Frage der Luftstickstoffbindung der Hefen interessiert; denn es war naheliegend, daran zu denken, ob nicht vielleicht die symbiontischen Hefen durch Luftstickstoffassimilation den N-Haushalt der Wirtstiere unterstützen würden.

Diesbezügliche Untersuchungen mit aus Bockkäferlarven isolierten Hefen von Müller 1934 brachten negative Resultate. Wiederum waren synthetische N-freie Nährlösungen verwendet worden.

Bei meinem langjährigen Umgang mit Hefekulturen waren mir in unserer Hefesammlung immer die sog. Kahlhefen dadurch aufgefallen, daß sie im Laufe von 6—12 Monaten ständig in Traubenmost weiterwuchsen und gewaltige Depots in ihm bildeten. Vor mir ist anscheinend nur Heinze¹⁾ (1900) diese Erscheinung aufgefallen. Dieser wunderte sich darüber, daß in einem von *Mycoderma cucumeri* Adh. bewachsenen Apfelmmost der N-Gehalt von 26,3 mg innerhalb von 5 Monaten nur um 6,7 mg gefallen war, während darin 734,8 mg Hefetrockensubstanz gewachsen war.

Leider hat Heinze damals nicht den Gesamt-N-Gehalt des *Mycoderma*hefe-Depots bestimmt. Bei Annahme eines ungewöhnlich niedrigen N-Gehaltes von Hefetrockensubstanz von nur 3% (König gibt für Hefetrockensubstanz N-Gehalte von 8,7—11,5% an) staken in dem *Mycoderma*depot mindestens 22 mg N, also mindestens um 15,3 mg mehr als der N-Rückgang im Apfelmmost betrug. Der Einwand, daß in Heazines Versuch die Kahlhefe aus N-Verunreinigungen der Luft, wie Ammoniakdämpfen oder aus Stickoxyd Stickstoff, bezogen hätte, kann nicht gemacht werden, da die Kulturflasche mit einem mit Schwefelsäure

¹⁾ Heinze, B. Zur Morphologie und Physiologie einer *Mycoderma*-Art (*Mycoderma cucumeri* Aderh.). Landw. Jahrb., Bd. 29, S. 427—466, 1900.

beschiedenen Garspund verschlossen und in der Flasche nur ein Luftraum von 350 ccm Inhalt war.

Die auffallende Erscheinung des üppigen Wachstums von Kahlhefen begann ich nun 1939 mit N-Analysen zu verfolgen. Es wurden zunächst 500 ccm Rollflaschen mit 300 ccm Traubenmost von 291,2 mg Gesamt-N-Gehalt beschickt, sterilisiert und mit Kahlhefen beimpft. Der Most bot darin der Luft rund 0,5 dm² Oberfläche dar. Die gleiche Mostmenge wurde in verschiedene sog. Fernbach-Kolben gegeben, wo sie der Luft rund 3 dm² Oberfläche darbot und mit den gleichen Hefen beimpft. In jeder Woche wurde jedes Gefäß einmal kurz erschüttelt, damit ein Teil der Kahldecke absank und sich wieder neue Decken bilden mußten. Nach 6 Wochen wurden die Moste mitsamt den Hefen in Doppelanalysen einer Gesamt-N-Bestimmung nach Kjeldahl und Parnas unterworfen.

Wie die Analysenergebnisse in folgender Tabelle zeigen, war in allen Fällen ein weit über die mögliche Fehlergrenze hinausgehender Gewinn an Gesamt-N festzustellen. Weiterhin zeigt die Tabelle, daß die größten N-Zunahmen bis 47 % des Ausgangsstickstoffs in den Fernbachkolben bei größerer Mostoberfläche eingetreten waren. In anderen Versuchsreihen waren in 3 Monaten N-Zunahmen bis 104 % des Ausgangsgehaltes bei ausgewählt tüchtigen Hautbildnern festgestellt worden.

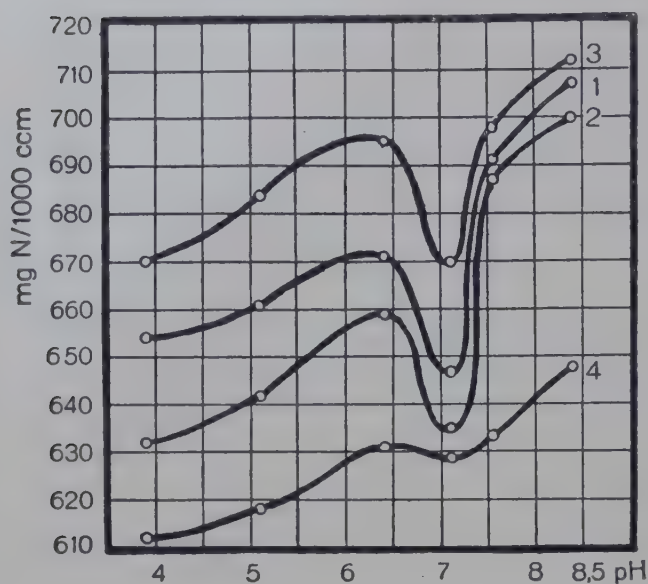
Hefeart	N-Gehalt der Kontrolle	N-Gehalt bei 0,5 dm ² Oberfläche	N-Gehalt bei 3 dm ² Oberfläche
<i>Pichia membranaefaciens</i>	291,2 mg	343,7 mg	407,7 mg
„ <i>farinosa</i>	291,2 mg	(Aufschluß verunglückt)	403,8 mg
<i>Mycoderma vini</i> 12	291,2 mg	372,8 mg	428,1 mg

In den Jahren 1940—1942 hat mein Schüler Hermann Frei¹⁾ das ganze Problem der Luftstickstoffassimilation in einer Dissertationsarbeit erneut und gründlich durchgearbeitet, und zwar mit folgenden Hefegattungen: *Saccharomyces*, *Mycoderma*, *Willia*, *Pichia*, *Torulopsis* und *Endomyces vernalis*. Die Ergebnisse von H. Frei waren zusammengefaßt folgende:

1. Alle oben genannten Hefearten erwiesen sich im oxydativen Stadium zur Assimilation elementaren Stickstoffs befähigt.
2. Je stärker das Vermögen zur Hautbildung der betreffenden Hefen ist, um so höher sind die Luftstickstoff-Assimilationsleistungen.
3. Für die Luftstickstoffassimilation besteht ein ausgesprochenes Temperaturoptimum. Dieses liegt für die einzelnen Hefearten verschieden hoch, zwischen 23 und 27 °C.
4. Je größer die der Luft dargebotene Oberfläche, desto größer ist die N-Zunahme einer Hefekultur.

¹⁾ Frei, H. Quantitative Untersuchungen über die Assimilation elementaren Stickstoffs der Luft durch hautbildende Hefen. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 104, S. 326—365, 1942.

5. Auch die Wasserstoffionenkonzentration ist von Bedeutung. Es wurde ein Optimalbereich bei pH 6,0 und pH 8,4 festgestellt. Im letzteren erfolgten die größten N-Zunahmen.

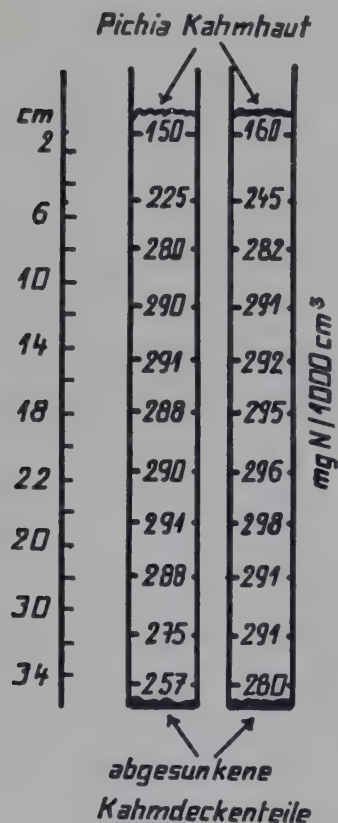


6. Mit peinlichst gereinigter Luft durchgeführte Dauerbelüftungskulturen ergaben ebenfalls N-Zunahmen, die nur aus elementarem Luftstickstoff stammen konnten.

Abb. 14. Die N₂-Zunahmen in verschiedenen pH-Bereichen. Ausgangswert 524 mg N₂-L. Dargestellte Werte nach vierwöchiger Kultur. 1 = *Mycoderma*, 2 = *Willia*, 3 = *Pichia*, 4 = *Torulaspora*.

(Nach H. Frei.)

7. Die Zunahme des Gesamtstickstoffs einer Kahlmhefekultur geht nicht ad infinitum weiter, sondern es setzen nach einiger Zeit Abbauvorgänge ein, wobei flüchtige organische Stickstoffverbindungen und schließlich Ammoniak entstehen.



8. In einem von Kahlmhefen bewachsenen flüssigen Nährmedium befindet sich unmittelbar unter der Kahlmdecke eine N-ärmere Schicht, in der Mitte der Flüssigkeit bleibt der ursprüngliche N-Gehalt bestehen und am Grunde der Gefäße kommt es wieder zu einer Abnahme der Flüssigkeit, verursacht von den abgesunkenen und am Boden anoxybiontisch weiterlebenden Hefezellen.

Trotz der völlig übereinstimmenden Befunde H. Freis habe ich nach ihm nochmals Versuche mit abgeänderter Methodik durchgeführt.

Abb. 15. Der Stickstoffgehalt in den einzelnen Schichten zweier mit Kahlmhefe bewachsener Traubenmoste. Stärkste Abnahme des N-Gehaltes in der nächsten Nähe der Kahlmdecken, in der Mitte nahezu Konstantbleiben, am Grunde wieder Abnahme durch abgesunkene Kahlmhefzellen. (Nach Frei.)

Diesmal wurden die zu Stickstoffaufschlüssen benutzten Kjeldahlkolben gleichzeitig als Kulturgefäße benutzt. Sie wurden mit 50 ccm Traubenmost beschickt, mit Wattepfropfen verschlossen, sterilisiert und mit verschiedenen Hefearten beimpft. Ein Teil dieser Kolben wurde in einem isolierten Großthermostaten aufgestellt, ein Teil in große Exsikkatoren gepackt, welche zweimal hinter-

einander luftleer gepumpt und mit Luft, welche durch Gläseritten in konz. Kalilauge und konz. Schwefelsäure gewaschen worden war, beschickt wurden.

Bei letzterer Versuchsanordnung fallen mehrere Fehlerquellen weg, nämlich:

1. Da die gesamte Flüssigkeit im Kolben analysiert wird, entfallen die bei Probeentnahme möglichen Multiplikationsfehler.
2. Es braucht die Verdunstung nicht berücksichtigt und eingerechnet zu werden.
3. Festgestellte N-Zunahmen in den Kulturgefäßen können nur durch Assimilation elementaren Luftstickstoffs erfolgt sein.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen sind in den Tabellen 3 u. 4 wiedergegeben.

Tabelle 3. Der Gesamt-N-Gehalt in Kjeldahlkolben, beimpft mit der Weinheferasse Jerez 1933 A, umgerechnet auf 1 Liter.

		Zuwachs
Kontrolle bei Beginn des Versuches	368,3 mg	—
Kolben nach 20 Tagen aufgeschlossen.	366,3 mg	—
„ „ 52 „ „	649,5 mg	76,4%
„ „ 64 „ „	413,4 mg	12,2%
„ „ 72 „ „	589,2 mg	60,0%
„ „ 86 „ „	589,9 mg	60,0%
„ „ 94 „ „	587,8 mg	59,6%
„ „ 100 „ „	588,2 mg	59,7%
Kontrolle nach 100 Tagen „	368,5 mg	—

Diese Ergebnisse zeigen eindeutig, daß die Hefen im oxydativen Stadium zur Assimilation des molekularen Stickstoffs befähigt sind¹⁾. Ohne diese Eigenschaft müßte das Wachstum der Hefen auf Flüssigkeiten sehr schnell zum Stillstand kommen; denn der N-Vorrat der hefenächsten Flüssigkeitsschichten ist schnell erschöpft. Ein Nachschub wäre nur auf dem Wege der Diffusion möglich. Letztere ist jedoch so träge, daß sie praktisch der Hefehaut auf dem Most oder Wein keinen Nachschub an assimilierbaren N-Verbindungen liefert.

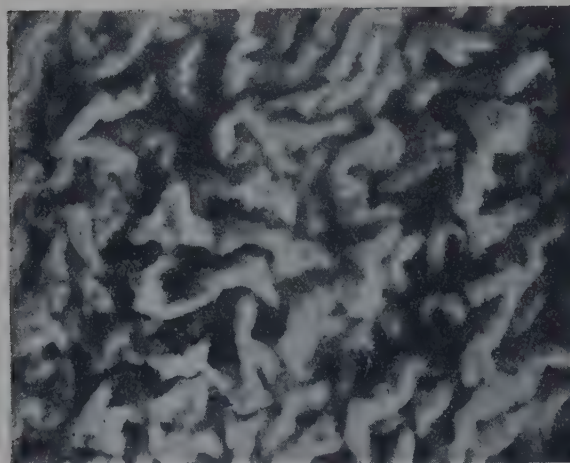
In dieser kritischen Phase schaltet die Hefe des oxydativen Stadiums ihren N-Haushalt auf Luftstickstoff um. Es ist sehr

¹⁾ Schanderl, H. Über die Assimilation des elementaren Stickstoffs der Luft durch hautbildende Hefen und durch *Cladosporium cellare*. Centralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 101, S. 401—408, 1940.

Tabelle 4. Die N-Zunahme von Hefekulturen in Kjeldahlkolben als Kulturgefäße, aufgestellt in Exsikkatoren mit gereinigter Luft, nach 84 Tagen (umgerechnet auf 1 Liter).

	N-Zunahme absolut in mg	N-Zunahme in %
1. Heferasse Jerez 1933 A ¹⁾	283,9	46,8
2. <i>Candida tropicalis</i>	262,1	43,2
3. <i>Torula nigra</i>	260,2	42,9
4. <i>Saccharomyces Ludwigi</i>	241,9	39,8
5. <i>Schizosaccharomyces octosporus</i>	233,2	38,4
6. <i>Willia</i> spec. Stamm 83	215,3	35,5
7. <i>Pichia farinosa</i>	109,0	34,4
8. <i>Mycoderma Bordetti</i> (Kufferath)	204,4	33,7
9. <i>Endomyces vernalis</i>	189,4	31,2

wahrscheinlich, daß bei der Fixierung des Luftstickstoffs die im Hautstadium regelmäßig aus den Hefezellen austretenden Chondriosomen eine wichtige Rolle spielen.



Die Fähigkeit der Bindung atomaren Stickstoffs hat man früher nur Bakterien und darunter nur gewissen Gattungen und Arten, wie z. B. *Bacterium radicicola*, *Azotobacter*, *Clostridium* etc. zugeschrieben. Diese Fähigkeit ist jedoch in gleicher Ausbildung und Vollkom-

Abb. 16. Aufsicht auf eine Jerezhefe-decke. Vergr. 4fach. Nach Marcilla, Alas und Feduchy.

menheit bei Hefen zu finden wie überhaupt nicht allein in physiologischer, sondern auch in morphologischer Hinsicht zwischen Kahlmhefen und *Azotobacter* eine nahe Verwandtschaft besteht.

¹⁾ Die spanischen Oenologen Marcilla und Alas konnten meine Angaben, daß die hautbildenden Rassen der echten Weinhefe Luftstickstoff assimilieren, im vollem Umfange bestätigen. Sie fanden, daß die Luftstickstoffassimilation der Hefen in stickstoffärmeren Weinen mit einem Alkoholgehalt von 12—13 Vol.% am stärksten war.

Die chemischen Vorgänge im oxydativen Stadium der Weinhefe.

Wir haben bisher betrachtet, was das oxydative Stadium biologisch bedeutet. Für die Technologie der Weinbereitung sind nun die im Hautstadium der Weinhefe sich abwickelnden chemischen Vorgänge von ganz besonderer Bedeutung. Ein Teil der chemischen Vorgänge, nämlich der Stickstoffhaushalt bzw. die Luftstickstoffassimilation, wurde im vorhergehenden Kapitel behandelt. Der praktische Kellerwirt ist vor allem daran interessiert, welche Veränderungen sich am Wein, der von einer echten Weinhefe der Gattung *Saccharomyces* bewachsen ist, nachweisen lassen. Darüber haben die spanischen Oenologen Marcilla, Alas und Feduchy¹⁾ 1936 gearbeitet, aber auch am Botanischen Institut in Geisenheim liefen darüber Untersuchungen, während die umfangreiche Arbeit der oben genannten spanischen Autoren durch die Wirren des damaligen spanischen Bürgerkrieges erst 1939 an die Öffentlichkeit gelangte.

Die Veränderungen des Weines unter einer Hefedecke oder „Hefebüte“ (flor del vino), bestehend aus echter Weinhefe (nicht aus *Mycoderma*-, *Pichia*- oder *Willia*-Arten) sind zusammengefaßt folgende:

1. Rückgang des Alkoholgehaltes. Dieser ist nicht etwa allein durch Verdunstung bedingt, sondern durch Atmungs- und Transformations-tätigkeit der Hefe. Der Alkoholschwund geht um so rascher vor sich, je höher die Temperatur und je niedriger die Alkoholkonzentration ist. In südlichen Ländern, wo der Alkoholgehalt der Weine von Natur ein höherer ist, nimmt man einerseits den Alkoholschwund ohne Bedenken in Kauf, zumal die Hefe dafür edlere Stoffe als Gegenleistung bietet. Andererseits wird aber das Wachstum der Hefedecke durch den höheren Alkoholgehalt der Weine abgebremsst.

Bei den alkoholärmeren Weinen unserer geographischen Breite dagegen würde der Alkoholschwund größer sein und zu rasch gehen. Daher wäre bei uns allein schon aus diesem Grunde, abgesehen von anderen, das oxydative Stadium der Weinhefe ein Schaden für den Wein. Während also diese biochemische Phase der Weinhefe für den südlichen Kellerwirt positive Seiten hat, muß der nördliche Kellerwirt alles tun, um das Aufkommen der oxydativen Lebensphase der Weinhefe zu vermeiden.

Bei den in Spanien üblichen Alkoholgraden der Weine tritt nach Marcilla ein Alkoholschwund von 0,3—1,15 Vol. % unter der Hefedecke auf. Ich dagegen habe in Versuchen mit deutschen Weinen erlebt, daß Jerezrassen in 6 Wochen bei Temperaturen von 25 °C fast den ganzen Alkohol zum Verschwinden gebracht hatten.

2. Rückgang der höheren Alkohole. Marcilla hat mit seinen Mitarbeitern festgestellt, daß von dem Rückgang nicht allein der Äthylalkohol, sondern auch die höheren Alkohole erfaßt werden. Nach Hennig und Villforth²⁾ kommen im Wein folgende höheren Alkohole vor: Isopropyl-, Iso-

¹⁾ Marcilla Juan, Genaro Alas y Enrique Feduchy. Contribucion al estudio de las levaduras que forman velo sobre ciertos vinos de elevado grado alcoholico. Ann. del Centro de Investigaciones Vinicolas I. 1—230, Madrid 1936 (erschieden jedoch erst 1939).

²⁾ Hennig, K. und Villforth, F. Die Aromastoffe der Weine. I. Teil Vorratsspeicherung und Lebensmittelforschung, Bd. V, S. 182—197, 1942. — II. Teil ebenda, S. 314—331, 1942.

butyl- und Isoamylalkohol, γ -Terpineol, Normal-Propyl-, Normal-Heptyl- und sekundärer Nonylalkohol.

3. Glyzerinschwund. Marcilla und Mitarbeiter haben unter der Jerezhedefecke Rückgänge des Glyzerins bis zu 50% des ursprünglichen Gehaltes festgestellt. Sie vermuten, daß das Glyzerin in Milchsäure verwandelt wird.

4. Rückgang der flüchtigen Säuren. Unter der Jerezhedefecke nimmt unter Umständen der Gehalt an flüchtigen Säuren so stark ab, daß man in südlichen Ländern damit mit Erfolg Weine auf biologischem Wege entessigte. Bekanntlich kann man die Essigsäure auf chemischem Wege, etwa durch Fällung, wie die Weinsäure, nicht aus dem Wein entfernen. Daher hat man die biologischen Möglichkeiten ausgenutzt.

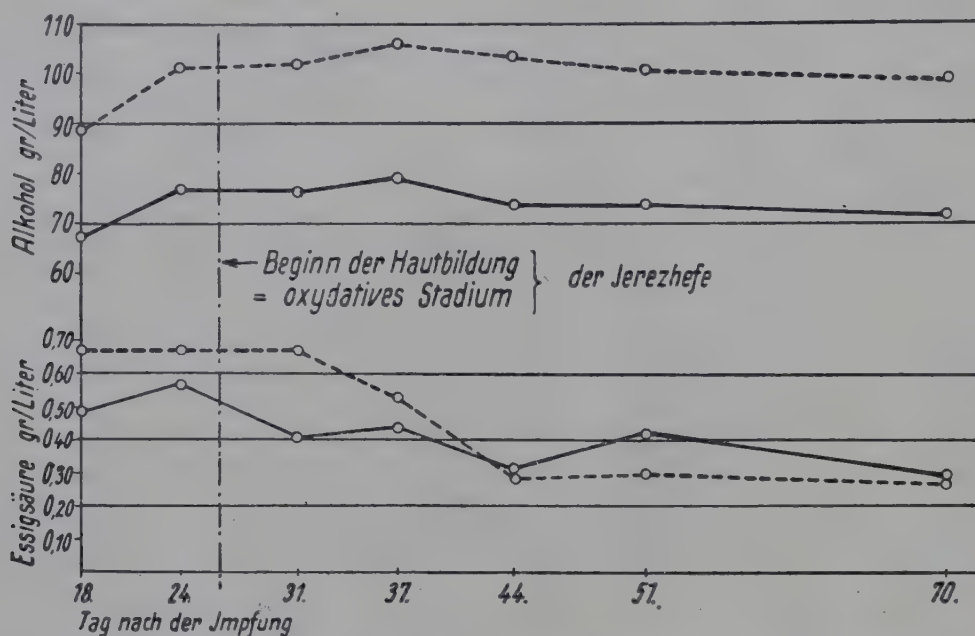


Abb. 17. Der Alkohol- und Essigsäuregehalt zweier Jerezhfekulturen vor und nach dem Eintritt des Hautstadiums.

Gonzalo F. Bobadilla¹⁾ von der oenologischen Station in Jerez berichtete 1943, daß er mittels Jerezhfedecken mit Erfolg zahlreiche essigstichige Weine kurierte. Die Weine werden leicht geschwefelt. Um Weine mit einem Essigsäuregehalt von rund 1,5 g/l zu kurieren, brauchte er 1–1½ Monate. Der Höchstgehalt, den er noch mit Erfolg behandelte, betrug 2,77 g Essigsäure im Liter. Die Hefe brauchte in diesem Falle 23 Tage bis zur Bildung einer geschlossenen Decke, und in 163 Tagen ging der Essigsäuregehalt zurück bis auf 1,6 g/l. Nach Bobadilla eignen sich junge Weine besser für die „Desacidificacion“ als ältere.

Auch Cruess, Weast und Gililland²⁾ gelang es, in Kalifornien essigstichige Weine mittels Jerezhfedecke wieder verkehrsfähig zu machen. So

¹⁾ Bobadilla, G. F. de. Aplicaciones industriales de las levaduras de flor. Revista Agropecuaria 12, S. 203–207, 1943.

²⁾ Summary of practical investigations on film yeast. Fruit. Prod. Jour. Bd. 17, 1938.

berichten diese Autoren, daß in einem Falle der Essigsäuregehalt von 2.58 g/l auf 0.53 g/l zurückging.

Diese Methode des Entessigens auf biologischem Wege ist leider bei unseren deutschen Weinen nicht anzuwenden. Wohl würde auch bei uns der Essigsäuregehalt verschwinden, mit ihm aber auch alle die feinen Duft- und Aromastoffe, die für den deutschen Wein so wesentlich sind.

5. Rückgang des Eisengehaltes und der Farbintensität. Marcilla und Mitarbeiter stellten auch einen bedeutenden Rückgang des Eisengehaltes der von einer Jerezhefedecke bewachsenen Weine fest. Diese Erscheinung ist ohne weiteres verständlich. Sie beruht auf einem Absorptionsvorgang. Das Hefeplasma nimmt nämlich erheblich Eisen auf. Die von einer Hefedecke absinkenden Zellen üben eine schönende Wirkung aus. Es schlagen sich auf ihrer Oberfläche gegensinnig geladene kolloidale und feste, feine Bestandteile des Weines nieder. Dies ist ein Adsorptionsvorgang. Diese adsorptiven und adsorptiven Eigenschaften der Jerezhefedecke wurden von Bobadilla bewußt zur Schönung von Sherryweinen benutzt, und wie er berichtet, mit bestem Erfolg. Er hat sogar Geruchs- und Geschmacksfehler von Weinen mit Erfolg beseitigt.

Die Erzielung von Weinen mit heller Farbe (vinos palidos) spielt im Jerezhgebiet eine bedeutende Rolle. An der „Bleichung“ der Weine unter einer Hefedecke sind außer diesen noch andere Faktoren beteiligt (siehe Redoxpotential).

6. Rückgang des Aschengehaltes und der Alkalität der Asche. Die im oxydativen Stadium wachsenden und sprossenden Hefezellen benötigen zum Aufbau ihrer Körper auch Aschenbestandteile. Letztere gehen vom Wein in die Hefe über. Aus diesem Grunde geht der Aschengehalt der Weine zurück. Außerdem ist die Asche an Alkalien ärmer.

7. Zunahme der Aldehyde. Diese betrug in den Experimenten von Marcilla und Mitarbeitern 20—310 mg/l. Die Aldehydifizierung ist in chemischer Hinsicht das wesentlichste Merkmal der „Sherrysierung“ des Weines, wie auch bereits 1938 Ing. agr. Mihnea in Geisenheim mit einer besonderen Methode feststellte, bei der die flüchtigen Weinbestandteile bei Temperaturen von 35 bis 75 °C destilliert und mittels Temperaturen von -70 °C zur Kondensation gebracht wurden. Die Aldehyde entstehen, wie Marcilla vermutet, durch unvollständige Veratmung der Alkohole, insbesondere des Äthylalkohols.

8. Zunahme der flüchtigen Ester. Daß unter dem Einfluß der Jerezhefedecke auch der Gehalt an Estern mit niedrigem Siedepunkt zunimmt, hat ebenfalls bereits 1938 Mihnea in Übereinstimmung mit Marcilla nachgewiesen. Man kann daher hier auch von einer Esterifizierung sprechen, wenn auch nicht auf dieser, sondern auf der Aldehydifizierung der Schwerpunkt liegt.

9. Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration. Unter dem Einfluß der Hefedecke nimmt der Gehalt des bewachsenen Weines an freien Säuren zu. Daraus resultiert ein Absinken der pH-Zahl, das in Versuchen von Marcilla, Alas und Feduchy 0,38 Einheiten betrug. Der Gewinn von freier Säure ist für die Südweine ein sehr wesentliches, qualitätshebendes Moment.

10. Das Redoxpotential. Man möchte meinen, das Oxydationspotential der von einer Jerezhefedecke bewachsenen Weine müßte unter dem Ein-

fluß der Luft zunehmen. Dies ist jedoch zunächst nicht der Fall. Umgekehrt, unter dem Einfluß der Hefedecke nimmt, wie unsere vergleichenden Messungen ergeben haben, die rH-Zahl ab, also das Reduktionsvermögen des Weines zu. Das besagt, daß diese Hefen an den Wein ebenso wie die

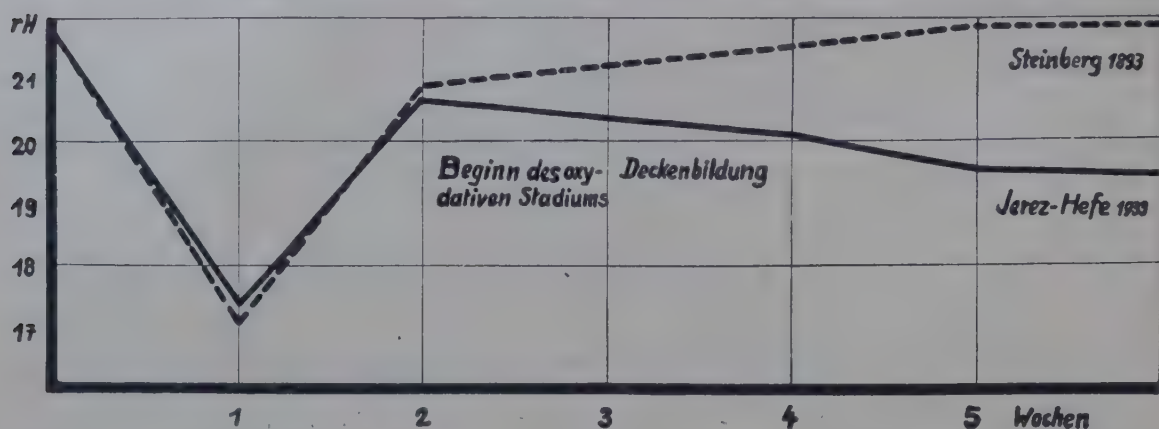


Abb. 18. Vergleichsweise Verfolgung der rH-Zahlen zweier Hefekulturen. Man sieht deutlich, daß bei der Rasse Jerez 1933 vom Moment der Deckenbildung an erneut die rH-Zahlen fallen. Es werden also von ihr reduzierende Stoffe gebildet. Bei der nicht hautbildenden Rasse Steinberg dagegen bewegen sich die rH-Zahlen weiter nach oben.

echten Kahlmhefen reduzierende Substanzen abgeben, wenn auch nicht in dem starken Maße wie die letzteren. Daraus resultiert auch die Abnahme der dunklen Farbe der Weine im Jerezgebiet und die „Bleichung“ der Weine. Die Weißweinfarbstoffe wirken selbst als Redoxindikatoren. Hand in Hand mit dem leichten Absinken der rH-Zahlen geht ein Absinken der pH-Zahlen einher.

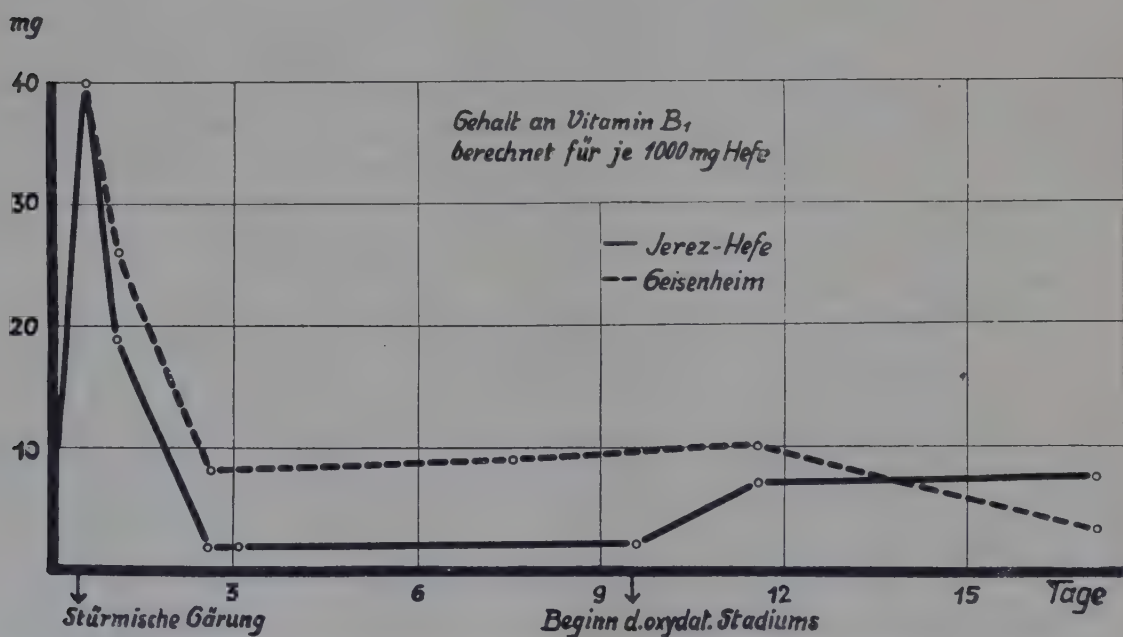


Abb. 19. Der Aneurinegehalt (= Vitamin B₁) während der verschiedenen Lebensstadien zweier Heferassen. Man sieht, daß beide den höchsten Gehalt in der Gärungsphase aufweisen. Die Jerezhefe jedoch produziert im Hautstadium erneut Vitamin B₁.

Die Sherrysierung¹⁾ ist nicht einfach ein Alterungsvorgang. Alterungsvorgänge sind stets mit einem Ansteigen der rH-Zahlen verbunden, weil sie mehr oder minder Oxydationsvorgänge sind. Obwohl die Hefe in dieser Phase oxybiontisch (oxydativ) lebt, ist der Effekt auf den Wein kein oxydativer, sondern ein reduktiver.

Die Weine sind unter der reduzierend wirkenden Hefedecke gegen Luftgeschmack und Mäuseln geschützt.

11. Acetale. Das sind Aether mehrwertiger Alkohole, welche durch Einwirkung von Aldehyden auf Alkohole entstehen. Daher auch Acetalisierung.

12. Polymerisierung der Phenole der Gerbstoffe zu Resinaten.

13. Autolyseprodukte der Hefe. Absinkende Hefedeckenteile autolysieren am Grunde der Weinbehälter ganz langsam. Die vom Wein aufgenommenen Autolyseprodukte (Aminosäuren) verleihen ihm bei langer Lagerung auf der Hefe einen mehr oder minder deutlichen an „Maggiwürze“ erinnernden Geschmack.

14. Vitamine der Hefe. Es müßte noch genauer geprüft werden, ob der Wein unter einer Jerezhefedecke an Vitamin B₁ gewinnt und wieviel. Ein leichter Vitaminisierungseffekt ist möglich, da nach unseren Untersuchungen die Jerezhefe im Hautstadium erneut Vitamin B₁ synthetisiert. (Siehe Abb. 19.)

Die Wasserstoffionenkonzentration (= pH) und das Reduktions-Oxydations-Potential (= rH oder Redoxpotential)

Der Gehalt des flüssigen Mediums an Säure spielt für das Wachstum der Mikroorganismen eine wichtige Rolle. Früher hat man den Säuregehalt nur als Titrationssäure zu bestimmen und auszudrücken vermocht. Im Most und Wein gibt man bei uns den Säuregehalt in g/l als Weinsäure berechnet an. Die Titrationssäure umfaßt jedoch gebundene und freie Säuren. Letztere sind für die Mikroben bedeutend wichtiger als die gebundenen Säuren. Auch die menschliche Zunge reagiert eindeutig auf freie Säure. So erscheint bei gleichem Gehalt an Titrationssäure derjenige Wein mit dem größeren Anteil an freier Säure der menschlichen Zunge meist saurer.

Die freie Säure eines Mediums nennt man auch aktuelle Säure. Wir haben heute in dem Gehalt an freien Wasserstoffionen ein exaktes Maß für die aktuelle bzw. biologisch wichtige Säure eines Mediums.

Die Wasserstoffionenkonzentration oder die Wasserstoffzahl wird in Gramm pro Liter angegeben. Da es sich jedoch hierbei um sehr kleine Zahlen handelt, hat es sich eingebürgert, dafür jeweils den negativen Logarithmus dieser Zahlen zu nehmen. Dieser wird Wasserstoffexponent oder abgekürzt pH (pondus Hydrogenii) genannt. Die pH-Skala geht von 0 bis 14. Der Bereich von 0—7 ist der saure Bereich. 7.0 stellt den Neutralpunkt dar und von 7—14 erstreckt sich der alkalische Bereich.

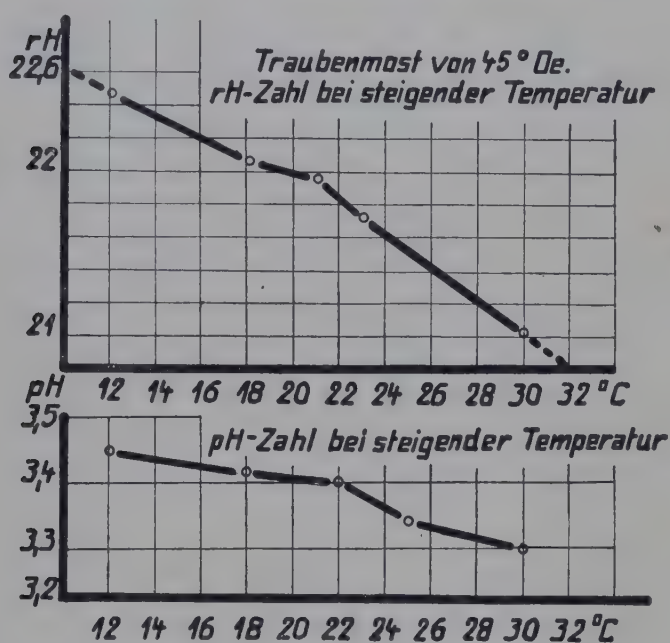
pH 7 bedeutet z. B., daß in der betreffenden Lösung $-\log 10^{-7} = 0.0000001$ g freie H-Ionen und ebenso viele OH-Ionen im Liter vorhanden sind.

¹⁾ Das gesamte bisher erschienene Schrifttum über die Sherryhefen ist mit 69 Spezialarbeiten aufgezählt in W.V. Cruess: Investigations of the flor Sherry process. Bulletin 710 of the College of Agr. University of California, Berkeley Oktober 1948.

Die Wasserstoffionenkonzentration ist für die Entwicklung der Mikroorganismen von großer Bedeutung.

Die Bakterien vertragen im allgemeinen keine hohe H-Ionenkonzentration, sie sind gegenüber freien H-Ionen empfindlicher. Die Pilze dagegen ertragen wesentlich höhere H-Ionenkonzentrationen. Innerhalb der Gattungen und Arten der beiden Pflanzengruppen bestehen natürlich Unterschiede. Aber man kann allein durch Anreicherung eines Mediums mit freien H-Ionen das Aufkommen von Bakterien verhindern und häufig auf chemisch-selektive Weise z. B. Hefen und Bakterien trennen. Aber auch die Hefen reagieren eindeutig auf das pH eines Nährmediums.

Die unterste Grenze liegt bei der Gattung *Saccharomyces* zwischen pH 2,0 und 2,4, die oberste bei pH 12. Die Hefen haben also einen verhältnismäßig weiten pH-Bereich. Die sog. Schleimhefen bilden nur im höheren pH-Bereich Schleim, im ausgesprochen sauren Bereich nicht. Im pH-Bereich 8–11 schaltet die Hefe mehr auf Atmung um und gärt kaum.



Auch die Weinbakterien reagieren deutlich auf die H-Ionenkonzentration. Obwohl sie sich noch bei einem für Bakterien erstaunlich niedrigen pH (2,5 bis 3,0) zu entwickeln vermögen, liegt ihr pH-Optimum wesentlich höher (etwa 4–5). Schon eine kleine Verringerung der H-Ionenkonzentration bewirkt eine erhebliche Beschleunigung ihrer Entwick-

Abb. 20. Der Einfluß der Temperatur auf die rH- und pH-Werte eines Weines.

lung. Die sog. „Säureabbau Bakterien“ des Weines sind bei pH-Zahlen des Weines von 2,5–3,5 Nutzpflanzen und werden aber bei pH 4 bis 5 des Weines zu schädlichen Pflanzen. Der Wasserstoffexponent ist daher für die Weinbakteriologie von ausschlaggebender Bedeutung.

In der Mikrobiologie ist in letzter Zeit ein neuer Begriff aufgetaucht, das Reduktions-Oxydations-Potential oder abgekürzt Redoxpotential. Dieses Potential wird in Zahlen ausgedrückt, entweder in Millivolt oder neuerdings in Wasserstoffdrucken einer Vergleichselektrode.

Da die letztere Angabe unabhängig von pH ist bzw. schon die pH-Verhältnisse einbezogen enthält, ist sie praktischer als die Angabe in Volt, da hier zusätzlich der zugehörige pH-Bereich angegeben werden muß, also zur Charakterisierung des Potentials 2 Zahlen nötig wären.

Da es sich aber um relativ kleine Wasserstoffdrucke handelt, nahm man ähnlich wie beim pH den negativen Logarithmus und wählte als Symbol „rH“.

So wie man mit der pH-Zahl und der pH-Skala von 0–14 die Saure-Basensysteme charakterisieren kann, so ermöglicht die rH-Zahl und die rH-Skala die reduzierende oder oxydierende Kraft einer Lösung genau und übersichtlich zu charakterisieren. Die rH-Skala erstreckt sich von 0–42.

rH 0 bedeutet die reduzierende Kraft gasförmigen Wasserstoffs von 1 Atm. Druck, der von einer Platinelektrode aktiviert wurde. rH 42 stellt das Potential dar einer Elektrode, die von reinem Sauerstoff von 1 Atm. Druck umgeben ist. Die Mitte stellt die rH-Zahl 21 dar, zu vergleichen mit der pH-Zahl 7. Hier halten sich oxydierende und reduzierende Kräfte die Waage. Je kleiner die rH-Zahlen, desto größer die Wasserstoffdrucke, desto größer die reduzierende Kraft. Umgekehrt, je größer die rH-Zahlen, desto kleiner die Wasserstoffdrucke, desto größer aber der Sauerstoffdruck, desto größer die oxydierende Kraft. Die reine theoretische Ableitung des rH-Begriffes würde im Rahmen dieses Buches zu weit führen. Man würde praktisch keinen großen Fehler begehen, wenn man sagen würde: Die rH-Zahlen

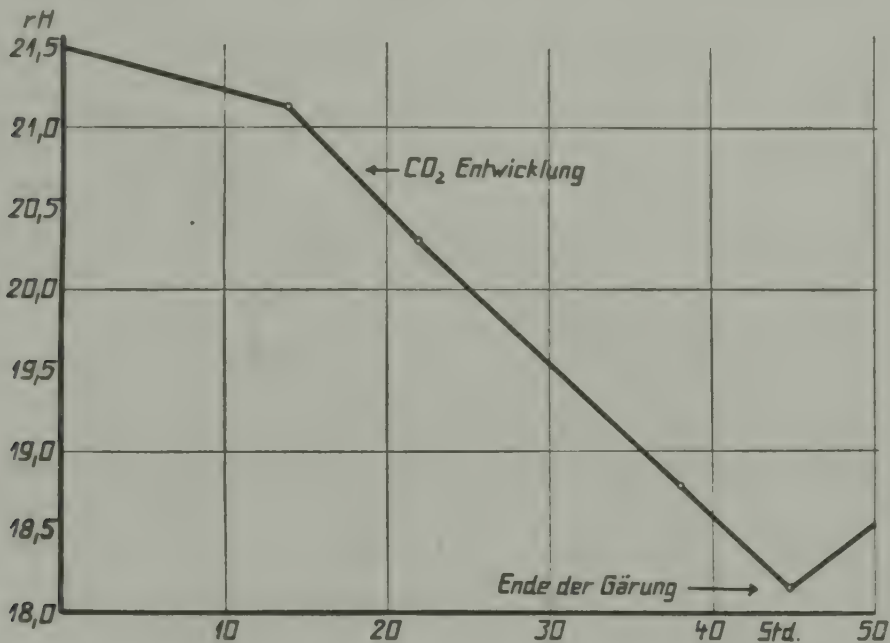


Abb. 21. Die Verfolgung der rH-Zahlen während der Gärung zeigt eindeutig, daß die Gärung ein reduktiver Vorgang ist. Sofort nach Beendigung der alkoholischen Gärung steigen die rH-Zahlen wieder an, weil die Hefen in diesem Stadium Sulfate, Sulfite und Bisulfite reduzieren.

drücken das Wasserstoff- und Sauerstoffverhältnis einer Lösung aus. Je größer die rH-Zahl ist, um so größer ist der Betrag des in der Lösung verfügbaren Sauerstoffs. Außerdem ist bei höherer rH-Zahl automatisch die Konzentration freier Wasserstoffionen eine geringere.

Umgekehrt besagt eine niedrige rH-Zahl, daß in der Lösung z. B. für Mikroorganismen weniger Sauerstoff zur Verfügung steht.

So könnte man rein praktisch die rH-Zahlen auffassen. Theoretisch ist jedoch diese Auslegung nicht ganz richtig: denn Reduktion bedeutet streng genommen lediglich Elektronengewinn des Mediums und Oxydation Abgabe von Elektronen des Mediums an einen oxydablen Stoff.

Wenn also ein Mikroorganismus einen Stoff reduziert, so mobilisiert er Elektronen, die der Stoff bzw. das Medium gewinnt. Bei Oxydation dagegen beraubt der Mikroorganismus das Medium an Elektronen.

Wir sehen also an Hand der rH-Zahlen in einer Lösung zunächst seinen Elektronenreichtum, und wenn wir die Veränderungen der rH-Zahl verfolgen, erkennen wir sofort, ob in der Lösung momentan reduktive oder oxydative Vorgänge sich abspielen. Dies ist der Grund, weshalb die rH-Zahl für den Biochemiker und Mikrobiologen so viel bedeutet.

Für letzteren besagt die rH-Zahl noch mehr, nämlich, ob diese oder jene Pflanze in dem betreffenden Medium existieren kann, ob sie schnell wachsen wird oder langsam, mehr atmen oder gären wird. Die rH-Zahl des Kulturmediums bestimmt nämlich in ausschlaggebender Weise die Stoffwechselrichtung der Mikroorganismen, ja bei *Mucoraceen* sogar die Form der Zellen.

So direkt an der Luft bilden *Mucoraceen* langgestreckte Hyphen, sog. Luftmycel. In einiger Entfernung von der Oberfläche werden die hyphenbildenden Zellen schon kleiner und häufig in Einzelzellen, sog. Oidien, abgeschnürt. Bei noch geringerem Sauerstoffgehalt des Mediums keimen die Sporen nicht mehr zu Hyphen, sondern zu Blastokoniden oder Scheinhefen aus (siehe Abb. 50). Diese Zellformen beginnen sogar zu gären, während das Luftmycel oder das Mycel an den oberen Substratschichten nur atmet.

Weiterhin spielen Veränderungen des Redoxpotentials in einem von verschiedenen Mikroorganismenarten bevölkerten Nährmedium im Konkurrenzkampf der Gattungen und Arten untereinander eine große Rolle. Mikroben, welche die Redoxzahlen des Mediums nach unten verschieben, schalten allein schon dadurch alle Konkurrenten aus, welche zum Leben eine höhere Redoxzahl bedürfen.

Allein schon innerhalb der Hefen gibt es große Unterschiede in den Ansprüchen gegenüber dem Reduktions-Oxydationsverhältnis. So benötigen haploide Hefen ein wesentlich höheres Redoxpotential als diploide Hefen. Erstere vermögen in Gegenwart von Kahlhefen, welche z. B. in einem Traubenmost innerhalb weniger Tage die rH-Zahl um 2–3 ganze Einheiten nach unten verschieben, nicht zu gären. Erhöht man dagegen künstlich die rH-Zahl des Mostes mittels Zusatz eines Tropfens H_2O_2 , so setzt prompt nach 24 Stunden die Gärung ein (Abb. 96).

Es gibt Hefen, welche von Natur aus verhältnismäßig niedrige rH-Gebiete auszuhalten vermögen. Eine solche Hefe ist *Saccharomyces Ludwigii*. Andererseits können Hefen auch allmählich an niedrige rH-Bereiche gewöhnt werden. Dies hat man in der Praxis der Hefereinzucht durch Zusatz von schwefliger Säure schon lange Zeit getan und diese Hefen Sulfithefen genannt. Man glaubte, diese Hefen wären resistent gegenüber SO_2 . In Wirklichkeit handelt es sich hier nicht um eine spezifische Resistenz gegenüber schwefliger Säure, sondern um eine Resistenz und Gewöhnung an einen niedrigeren rH-Bereich. Dieselbe Wirkung hat nämlich nicht allein SO_2 , sondern alle organischen und anorganischen Reduktionsmittel, wie z. B. Ascorbinsäure, Wasserstoff in *statu nascendi*, zweiwertiges Eisen usw.

Der Lebensbereich der Hefen allgemein geht etwa von rH 10 bis rH 27,5. Darüber wirkt der Sauerstoffgehalt des Mediums bereits giftig, und unterhalb 10 reicht der Sauerstoffgehalt für ein normales Leben der Hefe nicht mehr aus.

Bei der pH-Zahl spricht man von einer Pufferung. Man sagt z. B., eine Lösung ist gut pH-gepuffert, wenn durch Hinzufügen von H oder OH-Ionen oder durch Verdünnung der pH-Bereich nicht so schnell verschoben werden kann. Ein gut gepuffertes System leistet der Verschiebung aus seiner Gleichgewichtslage Widerstand. So ist z. B. der Traubenmost und Traubenwein relativ gut gepuffert. Man kann beide um das doppelt- bis 10fache verdünnen, ohne daß etwa die Anzahl freier Wasserstoffionen entsprechend dem Verdünnungsgrad abnehmen würde, z. B.

a) Most von 90⁰ Oechsle und
10,2 ‰ Gesamtsäure zeigte:
unverdünnt pH = 3,79
1 : 1 verdünnt mit
H₂O = 3,56
1 : 9 verd. m. H₂O = 3,40

b) Wein von 7,8 ‰ Gesamtsäure

unverdünnt pH = 3,12
1 : 1 verdünnt pH = 3,12
1 : 9 verdünnt pH = 3,22

Die rH-Kurve eines ungeschwefelten, auf der Hefe lagernden Trauben- oder Obstweines.

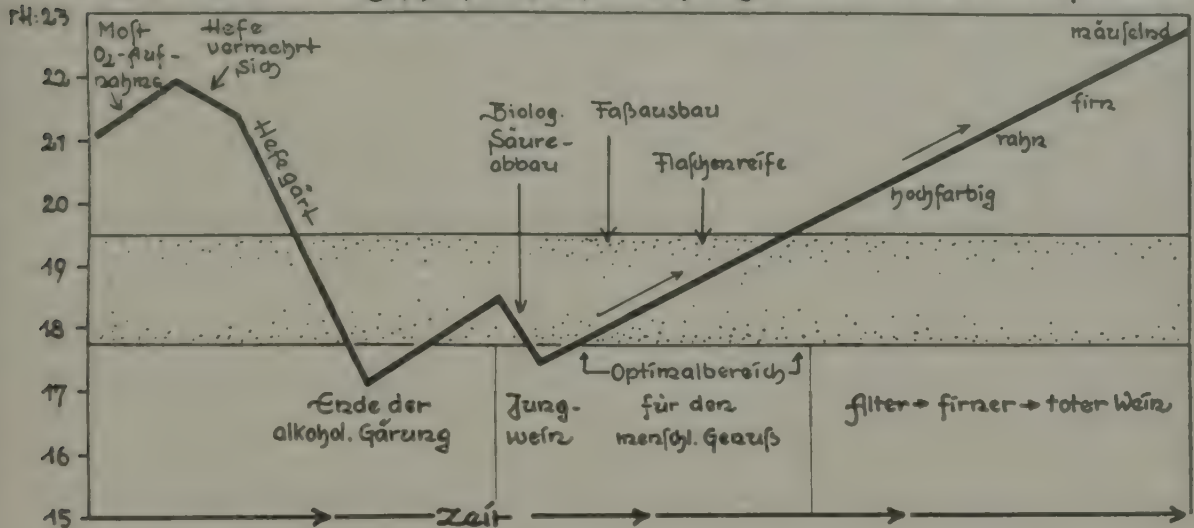


Abb. 22. Erklärung im Bild.

Bei der rH-Zahl spricht man statt von Pufferung von Beschwerung. Ein Redoxsystem kann mehr oder weniger stark beschwert sein. Der Traubenmost ist nicht nur gut pH-gepuffert, sondern auch gut rH-beschwert. Seine rH-Zahl läßt sich mit leichten Reduktionsmitteln nur bis zu einer gewissen Schwelle (rH 17) nach unten drücken. Nach der Vergärung durch die Hefe ist der Most bzw. Wein nicht mehr so stark beschwert. Daher sinkt seine rH-Zahl nun erheblich tiefer. Für kurze Zeit kann die rH-Zahl 13 erreicht werden. Dann beginnt jedoch eine ständige schnellere oder langsamere Aufwärtsbewegung der rH-Zahl. Der Wein strebt gleichsam den rH-Bereich wieder an, den er als Most hatte (siehe Abb. 22). Die Aufwärtsbewegung geht um so schneller, je mehr Luft auf den Wein einwirken kann, und je leichter der Wein „beschwert“ ist.

Der deutsche Kellerwirt bremst diese natürliche Aufwärtsbewegung der rH-Zahl des Weines durch Abstich von der Hefe, kühle Lagerung und regelmäßige Schwefelung ab. In schlechten Jahrgängen fließt der Most mit niedri-

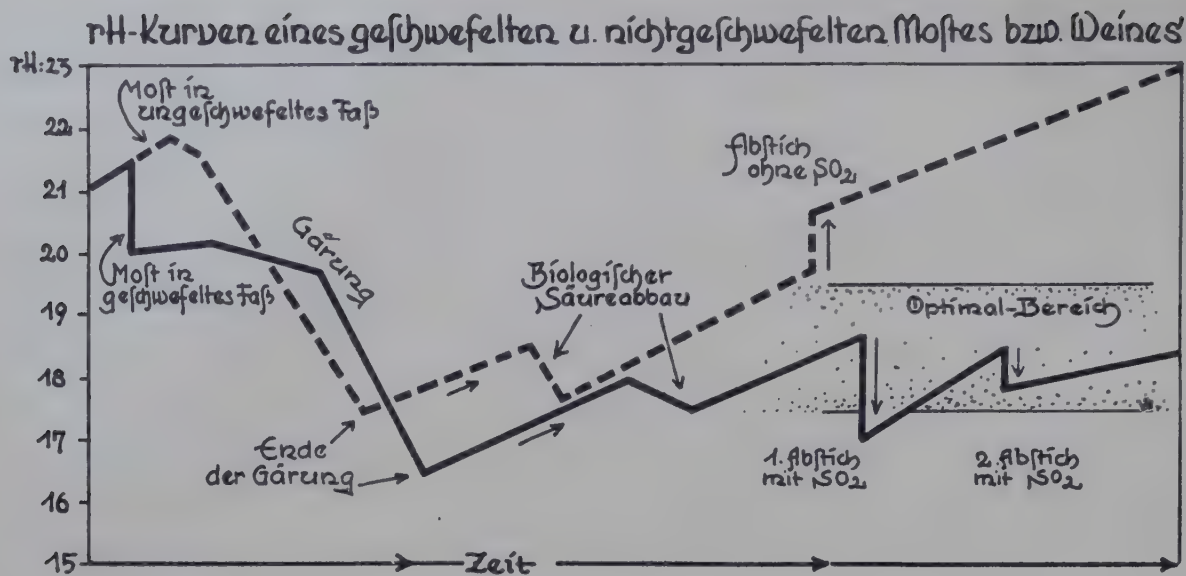


Abb. 23. Erklärung im Bild.

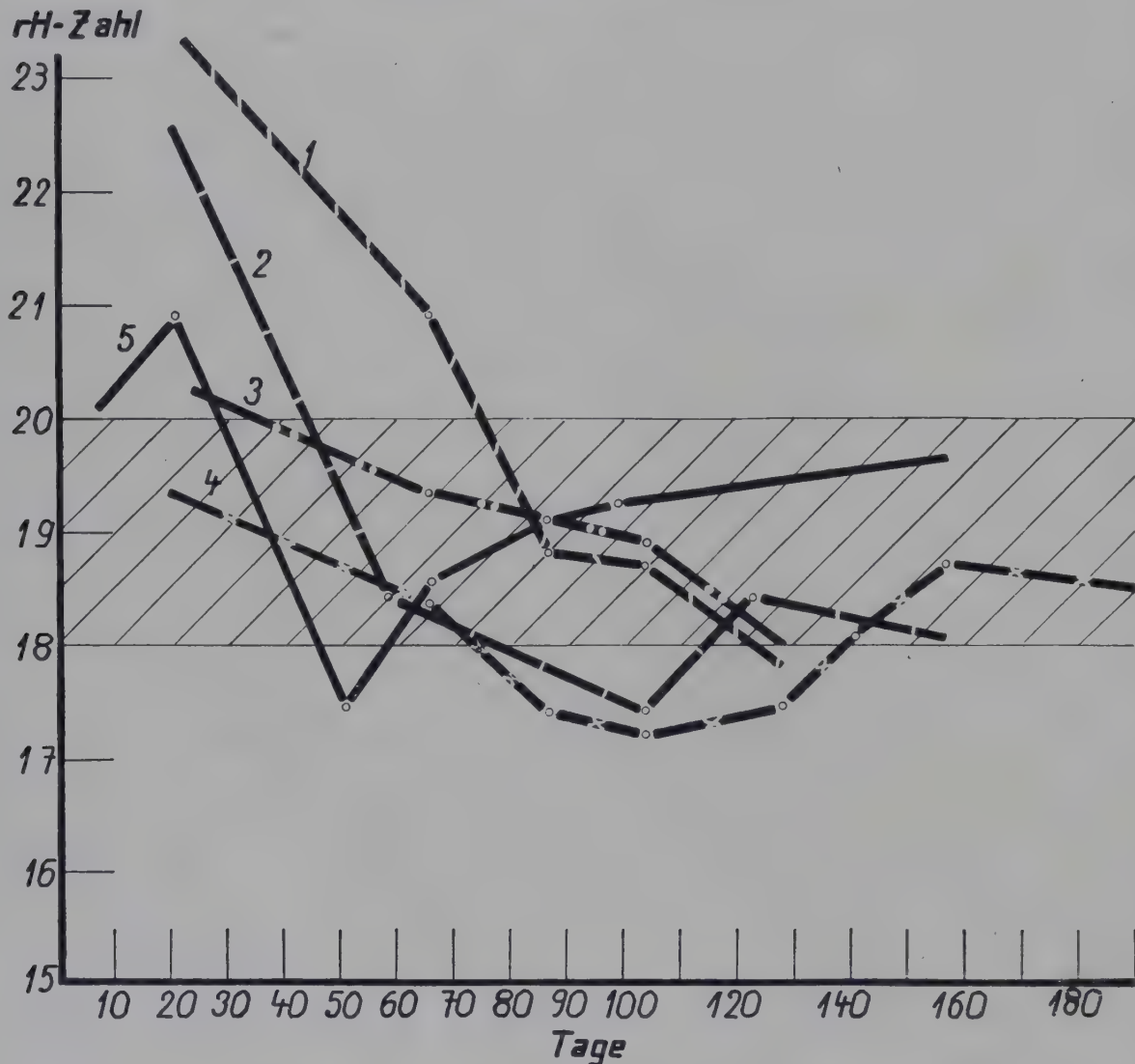


Abb. 24. Der Verlauf der rH-Kurven in 5 Halbstückfässern im Keller mit 1948er Rheingauer Weinen. Nr. 1—4 Rieslingmoste, Nr. 5 ein ungeschwefelter Silvanermost.

geren rH-Zahlen von der Kelter, in guten Jahrgängen mit höheren rH-Zahlen. Daher benötigen gute Jahrgänge mehr Schwefeldioxyd oder werden gar, wie der Jahrgang 1947, der ungewöhnlich hohe rH-Zahlen der Moste brachte, zu sog. „Schwefelfressern“, d. h. die zugesetzte schweflige Säure wird teilweise rasch zu Schwefelsäure aufoxydiert.

Die Betrachtung des Mostes und Weines als ein Oxydo-reduktionssystem macht unserst die wichtige Rolle des Schwefeldioxyds in der Kellerwirtschaft verständlich. Schon mit der Mostschwefelung greift der Kellerwirt in dieses System ein, drückt es auf die reduktive Seite, schaltet dadurch alle sauerstoffbedürftigen Mikroben des Mostes aus oder verlangsamt ihre Stoffwechselumsetzungen, behindert auch die Weinhefe an der reinen Atmung und veranlaßt sie, sich Energie durch Gärung, d. h. Reduktion, zu verschaffen.

Abgesehen von den rein physikalischen und biochemischen Wirkungen des Schwefels der Moste und Weine, hält der Kellerwirt mit Hilfe der schwefligen Säure den Wein länger in seinem optimalen rH-Bereich, in dem er der menschlichen Zunge am besten schmeckt. Der Optimalbereich liegt bei deutschen Weinen im reduktiven Bereich der rH-Skala, dagegen bei Südweinen und süßen Dessertweinen überhaupt, im oxydativen Bereich, d. h. über rH 21. Der deutsche Wein muß also deutliche reduktive Eigenschaften aufweisen, und dazu ist die Schweflige Säure nötig.

Ja, man kann innerhalb der deutschen Weine eine Anordnung in bezug auf ihre Optimal-rH-Zahlen treffen und stellt dann fest, daß Schaumweine und Moselweine durch niedrige rH-Zahlen (17–19), extraktreichere Weine, wie die Rheingauer Weine oder ganz besonders Beeren- und Trockenbeerenauslesen, durch höhere rH-Zahlen (19–20) gekennzeichnet sind. Unter den Schaumweinen wiederum zeigen die trockenen Brutsekte die niedrigsten, die süßeren dagegen höhere rH-Werte.

Liegen die rH-Werte eines Rheingauer Weines unterhalb 18 oder gar unterhalb 17, so sagt der Weinkenner: Dieser Wein ist noch zu jung, nicht ausgebaut, oder er ist überschwefelt oder stark eisenhaltig.

Liegt die rH-Zahl über dem spezifischen Optimalbereich, so sagt der Weinkenner: Dieser Wein ist schal, matt, tot, zu wenig geschwefelt, rahn, schmeckt nach Luft oder er mäuselet.

Die rH-Beschwerung der Weine ist nicht allein nach der Gegend verschieden, sondern auch abhängig von der Traubensorte. So haben wir württembergische Schwarzriesling Weine (Müllerrebe oder blauer Burgunder) kennengelernt, die

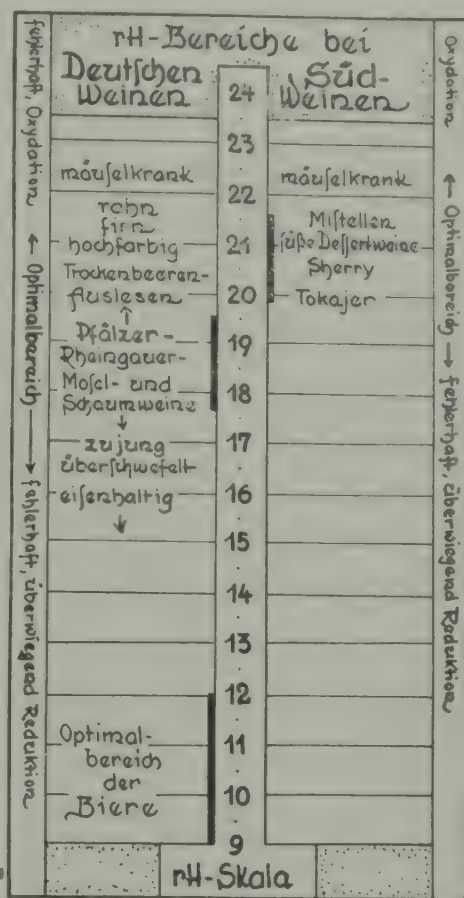


Abb. 25.

ohne Überschwefelung rH-Zahlen von 15—16 aufwiesen und dabei reif und vollmundig schmeckten.

Wir haben mit der rH-Zahl endlich die Möglichkeit, die Weine nach ihrem Reduktions-Oxydations-Potential bzw. nach ihrem physiologischen Alter zu ordnen, das bisher lediglich subjektiv rein gastronomisch geschah.

Der Schwerpunkt der deutschen Weine liegt auf der Esterseite, während bei den ausgesprochenen Südweinen der Schwerpunkt des Aromas sich auf die Aldehydseite verlagert. Die Ester sind jedoch labile, leicht zerbrechliche Verbindungen, die nur bei bestimmten pH- und rH-Verhältnissen stabil sind. Die Redoxzahl ist daher für die deutschen Weine von größter Wichtigkeit. Wenn beim Ausbau der deutschen Weine nur einmal für kurze Zeit die rH-Zahl zu hoch gekommen ist, so werden als erstes die feinen Aromastoffe der Esterklasse zerstört.

Das Studium der Oxydoreduktions-Verhältnisse des Weines wird sowohl nach der rein chemischen als auch nach der mikrobiologischen Seite in Zukunft noch manche neuen Einblicke liefern.

So ist von biologischer Seite aus noch bemerkenswert, daß gewisse Hefen, wie z. B. *Saccharomyces* und die Sulfitrassen von *Saccharomyces cerevisiae*

bei sehr niedrigen rH-Zahlen des Mediums im Laufe des Vermehrungs- und Angärungsstadiums die rH-Zahl zu heben vermögen. Sie schaffen sich gleich-

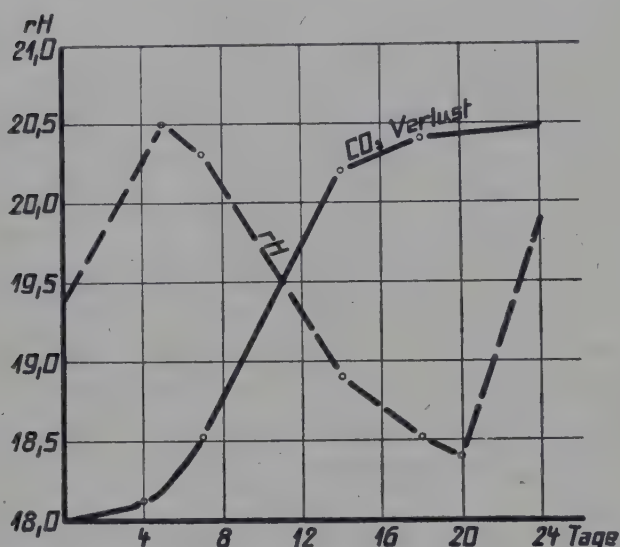


Abb. 26. CO₂-Entwicklung und rH-Zahlen einer Sulfitgärung mit *Saccharomyces Ludwigii*. Der Most wurde mit Kaliumpyrosulfit auf 500 mg SO₂/l gebracht. In den Zeiten des Anstieges der rH-Zahlen werden Sulfate, Sulfite und Bisulfite reduziert. Daher hatte der Wein am 24. Tag nur mehr 318 mg Gesamt SO₂/l.

sam selbst ein Sprungbrett für die nachfolgende Reduktion bzw. Gärung; denn letztere ist nur möglich, wenn ein bestimmtes Potentialgefälle gegeben ist. Die Hefe kann z. B. im Traubenmost nicht einfach von der Anfangsstufe rH 17 eine Reduktion von 5 rH-Stufen vollziehen. Sie kann dies erst von der Stufe 18—19 aus.

Wie bringen die genannten Hefen nun die Hebung des rH-Niveaus zustande? Vermögen sie in der Not aus Nitrat-, Sulfat- oder Sulfitionen Sauerstoff zu gewinnen oder vermögen sie H₂O₂ zu bilden und dieses mittels Katalase zu sprengen? Diese Fragen müssen einstweilen unbeantwortet und einer zukünftigen wissenschaftlichen Bearbeitung¹⁾ vorbehalten bleiben.

Wir werden in anderen Abschnitten und auch bei den Gärversuchen noch des öfteren auf den Begriff Redoxpotential zurückkommen.

¹⁾ Die Bearbeitung ist in meinem Institut bereits im Gange. Diplolandwirt Filipovic konnte bereits eindeutig nachweisen, daß die ausgesprochenen Sulfithefen Sulfite, Bisulfite, Thiosulfate und Selenite reduzieren und als Sauerstoffdonatoren benützen.

5. Die Systematik der bei der Weinbereitung eine Rolle spielenden Hefen

Die Hefen gehören zu der großen Klasse der *Ascomycetes* (Schlauchpilze), und zwar zu der Unterklasse der *Protoascomycetes*, das sind die ursprünglicheren Formen (protos = griech. = erster). Die erste und unterste Familie der *Protoascomycetes* ist die der *Endomycetaceae*. Diese Familie wird in 4 Unterfamilien eingeteilt. Die eigentlichen Hefen sind in der 3. Unterfamilie der *Saccharomycoidae* zu finden. Sie werden nicht als höher entwickelte, sondern als rückgebildete *Endomycetaceae* aufgefaßt, die durch Rückbildung des vegetativen Mycel's einzellig geworden sind. Auch die Sporenzahl ist reduziert worden. Während die *Endomycetaceae* im Ascus noch 8 Sporen führen, ist die Zahl der Sporen bei den *Saccharomycoidae* auf 1–4 reduziert. Es ist innerhalb der Hefen nicht allein deutlich eine Tendenz zur Rückbildung der Sporenzahl, sondern auch eine Tendenz zur Rückbildung der Sexualität festzustellen. So gibt es Hefegattungen, z. B. *Schwanniomyces*, bei denen die Sexualität nur mehr durch Fusionsschläuche angedeutet ist. Zu Fusionen (Konjugationen) kommt es aber nicht mehr. Die Sporen werden schließlich parthenogenetisch gebildet, und den stärksten Grad der Rückbildung stellt die Sporenlosigkeit (Asporogenität) dar. Diese Formen machen in systematischer Hinsicht die größten Schwierigkeiten.

Kompliziert wurde weiterhin die Hefesystematik, nachdem sich einige früher für normale Hefen gehaltenen Sproßpilze als zu den Ständerpilzen (*Basidiomycetes*) gehörig erwiesen. Das sind die Hefegattungen *Sporobolomyces* (= *Blastoderma salmonicolor*) und *Bullera*. Manche Hefesystematiker vermuten auch, daß die Rosahefen (*Rhodotulaceen*) unvollständige (imperfekte), reduzierte *Basidiomycetes* sind. Abwegig ist diese Annahme keineswegs; denn es ist bekannt, daß die zu den *Basidiomyceten* gehörigen Brandpilze (*Ustilagineen*) in gewissen Lebensstadien und unter gewissen Ernährungsbedingungen hefeartige Sproßverbände bilden, die verschiedengeschlechtlich sein können und dann miteinander kopulieren.

Wir können die Sachlage bei den Hefen mit folgendem Schema charakterisieren.

Ascosporogene Hefen
sind echte *Ascomycetes*

8
4
2
1 } Sporen

sporenlose imperfekte Formen
Torulopsidaceae

Basidiosporogene Hefen
echte *Basidiomycetes*

imperfekte Formen
Rhodotulaceae

Von phylogenetischen Gesichtspunkten aus ist auch die Tatsache bemerkenswert, daß Hefeformen nicht allein bei höheren *Ascomyceten*, wie z. B. bei *Taphrina* und schließlich sogar bei den noch höher organisierten *Basidiomyceten*, auftreten, sondern schon bei der bedeutend niedriger stehenden Familie der *Mucoraceen* (Köpfchenschimmel- oder Algenpilze).

Die Hefen stellen also in systematischer Hinsicht bei weitem keine einheitliche Pflanzengruppe dar. Kein Wunder, daß es noch heute um die Hefesystematik schlecht bestellt ist, obwohl heute kein

Vergleich mehr ist gegenüber der ungeheuren Verwirrung, die bis etwa zum Jahre 1930 bestand. Ein und dieselbe Hefe wurde früher mit 20—30 Synonymen in der Literatur geführt, ja der italienische Hefesystematiker Giordano¹⁾ stellte 1938 fest, daß bis dahin die Hefe *Debaryomyces neoformans* (Redaelli, Ciferri et Giordano) sogar mit 68 Synonymen geführt wurde!

In systematischer Hinsicht ist durch verdienstvolle Arbeiten der Italiener R. Ciferri und P. Redaelli 1929, der Franzosen M. Langeron und R. V. Talice und vor allem der Holländer N. M. Stelling-Dekker²⁾, H. A. Diddens³⁾ und J. L. Lodder⁴⁾ ein erfreulicher Fortschritt zu verzeichnen. Die Einteilungssysteme der 3 holländischen Forscher, welche die Ergebnisse der oben genannten italienischen und französischen Hefesystematiker weitgehend berücksichtigen, erfreuen sich dank ihrer guten wissenschaftlichen Fundierung heute allgemeiner Anerkennung. Man kann das Verdienst der Hefesystematiker gar nicht hoch genug veranschlagen. Ist es doch heute einem jeden Naturwissenschaftler möglich, an Hand der Monographien über askosporogene und anaskosporogene Hefen von Stelling-Dekker, Diddens und Lodder sich in dem früheren Irrgarten zurechtzufinden und eine Hefe einigermaßen zu bestimmen.

Es tut den Verdiensten der genannten Hefesystematiker keinen Abbruch, wenn auf die Unvollkommenheit auch ihres Systems hingewiesen wird. Die bisherigen Hefesystematiker waren der Entwicklung der Botanik entsprechend morphologisch bzw. monomorphistisch eingestellt. In der zukünftigen Hefesystematik müssen jedoch die Biologie, die Lebenszyklen und der dadurch bedingte Formenwandel mehr berücksichtigt werden. Die streng monomorphistischen Auffassungen sind bereits überlebt. Bei den Hefen läßt sich ein oft sehr weitgehender Polymorphismus einfach nicht mehr wegleugnen.

Der Arbeitsgang einer Hefebestimmung ist unter Zugrundelegung der Methodik und der Systeme der oben genannten holländischen Forscher folgender:

A. Feststellung der morphologischen Merkmale.

1. Zellenform, wobei der Einfluß der gewählten Nährböden zu berücksichtigen ist;
2. Vegetative Vermehrungsweise (Sprossung oder Querteilung);
3. Aussehen der Kolonien (Riesenzolonien), jedoch mit Vorsicht zu interpretieren, da hier häufig vegetative Mutationen auftreten;
4. Art und Weise der Sporenbildung, Untersuchung der Haut- und Ringvegetationen flüssiger Nährböden, Agar- und Gipsblockkulturen auf sporulierende Zellen. Beobachtung, ob mit Sporenbildung Kopulationen verbunden sind, ob Kopulationen isogam oder anisogam, oder ob die Sporen parthenogenetisch entstehen; Zahl der Sporen je Askus.
5. Form der Sporen, ob rund, halbkugelig, oval, nadelförmig, hutförmig mit oder ohne Leisten. Wichtigstes und konstantestes Merkmal einer Hefeart.
6. Sporenkeimung, ob mit oder ohne Promycel-(Keimschlauch-)bildung, Querteilung oder Sprossung, an einer oder mehreren Stellen, ob nach vorangegangener Kopulation zweier Sporen oder aus einer Einzelspore.

¹⁾ Giordano, A. Studio micologico del *Debaryomyces neoformans* (Sanfelice) Red. Cif. et Giord. e. significato della specie nella pathologia animale. Mycopathologia Bd. 1, S. 274—304, 1938/39.

²⁾ Die Hefesammlung des „Centraalbureau voor Schimmelcultures“ I. Teil. „Die sporogenen Hefen. Von N. M. Stelling-Dekker, Amsterdam, 1931.

³⁾ II. Teil. „Die anaskosporogenen Hefen. Erste Hälfte, von S. Lodder, Amsterdam, 1934.

⁴⁾ II. Teil. Zweite Hälfte, von H. A. Diddens und I. Lodder, Amsterdam, 1942.

B. Feststellung der physiologischen Merkmale.

1. Bestimmung des Gärvermögens in Einhorn, Durham- oder Struyk-Flaschen oder im Gärungssaccharometer nach van Jterson-Kluyvee. Geprüft werden meistens folgende 7 Zuckerarten: Dextrose, Lactulose, Mannose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Laktose. Gesetz von Kluyver 1914, von Stelling-Dekker 1931 bestätigt:
 - a) Jede Hefe, welche Glukose nicht vergärt, vergärt auch keine andere Zuckerart.
 - b) Jede Hefe, welche Glukose vergärt, vergärt ebenso auch die Fruktose und die Mannose.
 - c) Keine Hefe kann sowohl Maltose als auch Laktose vergären.
2. Prüfung auf Fähigkeit der Hautbildung unter aeroben Bedingungen. Aussehen der Haut.
3. Bestimmung der Zuckerassimilation nach der auxanographischen Methode von Beijerinck (beschrieben in Diddens und Lodder, 1942, Seite 74).

Zeigt die betreffende Hefeart eindeutig Sporenbildung. (wobei man sich vor Verwechslung von Ölkugeln, die fast immer bei oxydativer Lebensweise in Hefezellen entstehen, hüten muß, daher Beobachtung der Sporenkeimung wichtig), so gehört sie zu den askosporogenen Hefen. An Hand der festgestellten morphologischen Eigenschaften ergibt sich die systematische Stellung der betreffenden Art. Stelling-Dekker rechnet alle askosporogenen Hefen zu den *Endomycetaceae* und gliedert diese Familie in 4 Unterfamilien:

1. Unterfamilie *Eremascoideae* mit der einzigen Gattung *Eremascus*.
2. „ *Endomycoidae* mit den Gattungen *Endomyces* und *Schizosaccharomyces*.
3. „ *Saccharomycoidae*, unterteilt in Tribus a, *Endomycopseae* mit der einzigen Gattung *Endomycopsis*, Tribus b, *Saccharomycetaceae* mit den 6 Gattungen: *Saccharomyces*, *Torulaspora*, *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces* und *Schwanniomyces*. Tribus c, *Nadsonieae* mit den 3 Gattungen *Saccharomycodes*, *Hanseniaspora* und *Nadsonia*.
4. „ der *Nematosporoidae* (nadel- oder spindelförmige Sporen) mit den 3 Gattungen: *Monosporella*, *Nematospora* und *Coccidiascus*.

Nach den Arbeiten von Niehaus und Dvornik (siehe Apikulatushefen) wäre in Tribus c noch die Gattung *Kloeckeraspora* und nach der Arbeit von Baltatu (siehe Kahlhefen) in Tribus b die Gattung *Mycoderma* aufzunehmen.

Bildet die zu bestimmende Hefeart auf keinerlei Weise Asci mit Sporen, so muß in der Monographie der anaskosporogenen Hefen. I. Hälfte von J. Lodder, II. Hälfte von Diddens und Lodder, weiter gesucht werden.

Lodder teilt diese Hefen in 2 Familien: Die *Torulopsidaceae* und *Rhodotorulaceae*. Beide bilden keine Konidien, erstere bildet keine carotinoiden Pigmente, während letztere rote bis gelbe Pigmente carotinoider Natur bilden. Die Familie der *Torulopsidaceae* gliedert Lodder in 2 Unterfamilien:

- A. Zu den *Torulopsidaceae* werden diejenigen Hefen gerechnet, welche kein Pseudomycel und keine Blastosporen bilden,
- B. zu den *Mycotoruloideae* die Hefen mit Pseudomycel- und Blastosporenbildung. Die Familie der *Nectaromycetaceae* Sydow wurde fallen gelassen, da sich die einzige Gattung dieser Familie mit *Candida* als identisch erwies.

Die Unterfamilie der *Torulopsidaceae* teilte Lodder nur „vorläufig“ ein und nahm darin die Gattung *Torulopsis* Berlese, *Pityrosporum* Sabouraud, *Mycoderma* Persoon emend. Leberle, *Kloeckera* Janke, *Asporomyces* Chaborski, *Trigonopsis* Schachner, *Schizoblastosporion* Ciferri auf. Unterdessen ist für *Kloeckera*

und *Mycoderma* Sporenbildung nachgewiesen worden, so daß diese 2 Gattungen hier zu streichen wären.

Die Familie der *Mycotoruloideae* gliedern Diddens und Lodder in die Gattungen *Candida* Berkhout, *Brettanomyces* Kufferath und *Trichospora* Behrend.

Ein Einteilungssystem von Hefen kann und soll natürlich nicht definitiv sein. Es wird sich mit fortschreitenden Erkenntnissen manches verschieben. So wird vielleicht noch diese oder jene bisher anaskosporogene Hefe bei Auf- findung der richtigen Methode sich als askosporogen erweisen. Aber daß nun überhaupt ein kritisch durchdachtes, an Hand einer umfangreichen Hefe- sammlung aufgestelltes System vorhanden ist, ist ein riesiger Fortschritt.

Die Gattung Saccharomyces (Meyen) Reess.

Die Gattung *Saccharomyces* ist von verschiedenen Gesichtspunkten aus gesehen weitaus die wichtigste. Stelling-Dekker hat die Zahl der be- rechtigten Arten dieser Hefegattungen stark reduziert. Bis zum Erscheinen der Monographie Stelling-Dekkers waren in dieser Gattung allein an die hundert Artbezeichnungen im Gebrauch. Die auf Hansen zurückgehende Unterscheidung zwischen *Sacch. cerevisiae* und *Sacch. ellipsoideus* ist gefallen. Da die Bezeichnung *S. cerevisiae* die ältere ist, sind in dieser Art alle als *S. ellipsoideus* beschriebenen Stämme hier unterzubringen. Die Artbezeich- nungen *ellipsoideus* oder *vini* Müntz zu gebrauchen, ist wissenschaftlich nicht mehr haltbar und veraltet. Statt dessen ist die Bezeichnung *S. cerevisiae* var. *vini* zu verwenden. Die Zahl der wirklich unanfechtbaren Arten der Gat- tung *Saccharomyces* ist wahrscheinlich noch geringer; denn das von Stelling- Dekker noch als Artunterschiedsmerkmal benutzte Raffinose-Vergärungs- vermögen und die Unterscheidung in obergärige, die Raffinose zu $\frac{1}{3}$ und in untergärige, die Raffinose vollständig vergärende Hefen ist anfechtbar. Winge und Laustsen¹⁾ lehnen sie ab, weil keine regelmäßige Beziehung zwischen diesen beiden Eigenschaften bestehen würde. Nach Winge und Laustsen sind die Kategorien obergärige (top yeasts) und untergärige Hefen (bottom yeasts) in Praxis und Literatur zu buchstäblich interpretiert worden, worin ich ihnen voll beipflichte.

Charakteristik der Gattung *Saccharomyces* (Meyen) Reess.

Die Gattungsbezeichnung *Saccharomyces* stammt von Meyen 1837, die erste Charakteristik dieser Gattung stammt jedoch von Schwann 1837. Sie ist aus historischen Gründen interessant und lautet: „Runde, meistens aber ovale Zellen, gelbweiß, einzeln oder in Sprossenverbänden von 2 bis 8 Zellen. Quer auf diesen Reihen stehen wieder neue Reihen, so daß das Ganze ein kleines Pflänzchen darstellt. Die einzelnen Glieder können sich lösen und auf sich selbst weiter wachsen. Dies ist die Zuckerhefe: *Saccharomyces cerevisiae*.“

Reess fand als erster die „Sporulationsfähigkeit der Hefe“ und gab 1870 folgende Charakteristik:

„Einfache Ascomyceten ohne eigentliches Mycel. Die Zellen entstehen durch Sprossung und sprossen selbst auch wieder. Die so entstandenen Knospen lösen sich von der Mutterzelle nach kurzer oder längerer Zeit und vermehren sich dann selbständig. Ein Teil dieser Zellen entwickelt sich zum Askus, welcher 1 bis 4 ein- zellige Sporen bildet. Die keimenden Sporen wachsen wieder wie die vegetativen Zellen weiter.“

Die neueste Charakteristik der Gattung *Saccharomyces* lautet nach Stelling- Dekker 1931:

¹⁾ Winge, Ö. and O. Laustsen. On 14 new yeast types, produced by hybridisation. Compt. rend. des travaux du Laboratoire Carlsberg. Volume 22, No. 21, Kopenhagen, 1939.

„Zellen in jungen Wurzelkulturen rund, oval oder langgestreckt, oft in kleinen Spreßverbänden. Vegetative Vermehrung durch vielseitige Knospung. In Wurzel an Bodensatz, oft ein Ring und bisweilen nach längerer Zeit eine Haut. Ascen entstehen nach vorhergehender Kopulation oder parthenogenetisch. Sporen rund, oval oder selten nierenförmig, glattwandig, 1 bis 4 Sporen pro Ascus. Bisweilen Kopulation der Sporen vor der Keimung. Immer Vergärung von Dextrose, meistens auch von anderen Zuckerarten.“

Alle unsere Kultur-Weinhefen gehören zur Gattung *Saccharomyces* und Art *ceresiae*. Seitdem es Reinzuchthefen gibt, ist eine riesige Anzahl von Rassen in Kultur genommen worden. So führte die Geisenheimer Hefe-reinzuchtstation allein früher mehr als 1000 Herkünfte aus allen Weinbau-gebieten der Welt. Die einzelnen Rassen wurden nach Herkunftsland, -ort oder Weinberglage benannt. Berühmte Weingegenden, Weinorte oder Weinberglagen, wie Bordeaux, Hautes-Sauternes oder Château-Lafitte für französische, oder Mosel = Bernkastel, Lage Doktor, für deutsche Herkünfte, spiegelten als Heferassebezeichnungen etwas vom Ruhm der Weine dieser Gegenden, Orte oder Lagen wieder. Viele Hefebezieher schworen auf derartige Herkunftsbezeichnungen und bildeten sich ein, auf diese einfache Weise ihren Weinen etwas vom Glanz dieser Namen verleihen zu können. Private Hefe-reinzuchtanstalten haben schließlich diese irrige Ansichten bewußt propa-gandistisch genährt und finanziell ausgenützt. Sie gingen schließlich sogar so weit, dem Publikum weiszumachen, daß Hefeherkünfte, wie Madeira, Malaga oder Marsala, auch Madeira-, Malaga- oder Marsalacharakter irgend-welchem Gärsubstrat verleihen würden, obwohl der Charakter dieser Weine nicht durch die Hefe, sondern durch das Ausgangsmaterial und die Her-stellungstechnik bestimmt wird. Diese Weine sind gar keine Weine nach der Definition des deutschen Weingesetzes, sondern Mixturen von natürlichem oder eingedicktem Traubenmost, Wein und Weingeist, vielfach — wie die Mistelas — nur gespritzte Traubenmoste. Die Hefe trägt in diesen Fällen das allerwenigste zum Weincharakter bei.

Die Herkunftsbezeichnung ist in Wirklichkeit von sehr untergeordneter Bedeutung, die Eigenschaften der Heferasse dagegen sind das wichtigste.

Man kann Heferasen nach folgenden, praktisch wichtigen Eigenschaften selektionieren:

1. Hochgärrige Rassen, das sind solche, welche bei optimalen Tempera-turen Vergärungsgrade bis 18 und 18,5 Vol % Alkohol erreichen.
2. Kälteresistente Rassen, welche noch bei Temperaturen von 4 bis 10 °C ein normales Gärpensum (8–12 Vol. %) in praktisch belangloser Zeitverlängerung erledigen. Diese Rassen werden als „Kaltgärhefen“ bezeichnet.
3. Sog. „Sulfithefen“, das sind Rassen, welche imstande sind, aus ver-hältnismäßig niedrigem rH-Niveau heraus eine Gärung in Gang und zur Durchführung zu bringen.
4. Alkoholresistente Rassen, welche trotz Gegenwart von Alkohol, und zwar von 8–12 Vol. %, ohne große Verzögerung eine neue Gärung nach Zuckerzusatz einleiten können. Das sind sog. Umgärhefen und alle Schaumweinhefen.
5. Spezifische Schaumweinhefen, das sind solche Umgärhefen, die neben einer Resistenz gegenüber relativ hohen Alkohol-Anfangsstufen

außerdem noch die Eigenschaft besitzen, ein sandiges, leicht rüttelbares Depot zu bilden und nicht zur Maskenbildung neigen. Die Geisenheimer Hefereinzuchtstation selektionierte eine Schaumweinhefe, welche zugleich die Eigenschaft der Kälteresistenz besitzt, das ist die Rasse Champagne Epernay 1938.

6. Sog. „Sherryhefen“, das sind Rassen, welche bei Luftzutritt nach der alkoholischen Gärung schnell zur Hautbildung (Flor- oder Filmbildung) schreiten und rasch die für Sherrywein charakteristischen Bukett- und Geschmacksstoffe bilden. Solche Rassen sind nicht allein in südlichen, sondern auch in nördlichen Herkünften zu finden.
7. Gegen höhere Zuckerkonzentrationen resistente Rassen. Solche Stämme sind geeignet, noch Zuckerkonzentrationen über 30 Gewichtsprocente (oder 130° Oechsle) anzugären und Alkoholausbeuten von 10–13 Vol. % zu liefern. Wir nennen solche Rassen „Trockenbeer-Auslesehefen“.
8. Bestünde die Möglichkeit, für südliche Länder „versiedefeste“ Rassen zu selektionieren, welche noch auf 30–32° C erwärmten Alkohol ohne Schaden und ohne Plasmolyse aushalten; denn beim „Versieden“ der Weine ist es weniger die Temperatur von 30–32°, als vielmehr der auf diese Temperatur erwärmte Alkohol. Da das „Versieden“ bei uns, d. h. in nördlichen Weinbaugebieten keine Rolle spielt, ist bisher eine solche Selektion noch nicht vorgenommen worden. Aber sie wäre wohl ohne weiteres möglich.

Jede Heferasse bildet außerdem noch bei der Gärung mehr oder weniger Gärbukette, welche leicht flüchtig und nur kurze Zeit beständig sind. Es gibt z. B. Schaumweinhefen, welche wenig Gärbukette bilden und den Charakter des umzugärenden Grundweines kaum verändern, also „neutral“ wirken, während andere mit ihren Gärbuketten, die im Schaumwein deutlicher, markanter und längere Zeit hervortreten, den Grundcharakter des Ausgangsweines ändern oder beeinflussen können. Eine „neutrale“ Rasse ist z. B. die Geisenheimer Selektion „Champagne Ay“. So hat es der Praktiker in der Hand, je nach den für seine Zwecke wichtigen oder erwünschten Eigenschaften eine entsprechende Rasse zu wählen. Der Name oder die Herkunft spielt als solche zunächst keine Rolle, sondern nur in Verbindung mit der Kennzeichnung einer bestimmten, experimentell festgestellten und reproduzierbaren Eigenschaft. Über häufig bei der Anzucht von „Reinhefen“ gemachte Fehler siehe Seite 180.

Die Untergattung Zygosaccharomyces (Barker).

Die morphologischen Merkmale dieser Gattung decken sich völlig mit denen der Gattung *Saccharomyces*, nur mit dem Unterschied, daß bei *Zygosaccharomyces* der Sporenbildung eine Kopulation vorausgeht. Es entstehen jochartige Figuren der kopulierenden Zellen, die wohl Barker¹⁾ 1901 zur Schaffung einer eigenen Gattungsbezeichnung „Jochzuckerpilz“ (von griech. *zygon* = Joch, Band) veranlaßt haben.

¹⁾ Barker, B. T. P. A conjugating „Yeast“ — Philos. Transaction of the Royal Soc. of London, Bd. 194, S. 467, 1901.

Als physiologisches Unterscheidungsmerkmal wurde die Fähigkeit, hohe Zuckerkonzentrationen zu ertragen, angesehen und diesen Hefen von Kroemer und Krumbholz¹⁾ 1932 die Bezeichnung „osmophile“ Hefen gegeben.

Stelling-Dekker hat dieser Gattung bereits 1931 nicht mehr den Rang einer Hauptgattung, sondern nur den einer Untergattung gegeben. Von 21 Arten der Baarner Sammlung hat er bereits 4 die Existenzberechtigung abgesprochen. Winge und Laustsen²⁾ haben 1937 die Existenzberechtigung überhaupt der ganzen Gattung *Zygosaccharomyces* in Abrede gestellt, indem sie darauf hinwiesen, daß zwischen der Gattung *Saccharomyces* und *Zygosaccharomyces* nur eine „kleine biologische Differenz“ wäre. Erstere wäre in der Regel diploid und letztere würde nur eine haploide Phase von *Saccharomyces* darstellen.

Aber nicht allein die morphologisch-biologischen Gattungsmerkmale halten einer Kritik nicht stand, sondern auch die physiologischen. Die Bezeichnung „osmophil“ ist ebenfalls nicht stichhaltig. Die Endung „phil“ vom griechischen philos = „Freund“ ist wissenschaftlich anfechtbar, weil wir keine Beweise haben, daß diese Hefen hohe osmotische Werte „lieben“.

Zur Zeit der Untersuchungen von Kroemer und Krumbholz kannte man in der Oenologie noch nicht den Begriff Redoxpotential und seine Wichtigkeit für die Physiologie der Hefen. Weil diese Hefen in Versuchen höher konzentrierte Traubenmoste schneller zum Angären brachten als niedriger konzentrierte, schlossen die genannten Autoren auf „Osmophilie“ dieser Hefen. Höher konzentrierte Naturmoste haben aber immer ein höheres Oxydationspotential. Bietet man diesen Hefen niedrigere Zuckerkonzentrationen von gleich hohem Redoxpotential wie es hohe Zuckerkonzentrationen haben, so gären sie schneller die niedrigen Konzentrationen an. Das ist ein klarer Beweis, daß sie nicht „Freunde“ höherer Zuckerkonzentrationen an sich, sondern eines höheren Redoxpotentials sind oder mit anderen Worten, daß sie sauerstoffbedürftiger sind als diploide Hefen. Wir hätten mehr Recht, sie als „oxygeniophil“ zu bezeichnen.

Daraus erklärt sich ganz einfach, daß die sog. „Jochhefen“ sehr empfindlich auf Schwefelung und auf Lüftung reagieren. Erstere senkt und letztere hebt die rH-Zahlen des Mediums. Allein schon die Anwesenheit einer Kahmhefe, welche, ohne zu gären, das Redoxniveau durch Abgabe reduzierender Substanzen senkt, verhindert *Zygosaccharomyces* an einer Gärung.

Wir haben also das eigenartige Bild, daß haploide Hefen, um gären zu können, ein höher liegendes Redoxniveau benötigen als diploide Hefen, andererseits haploide Hefen höhere osmotische Gegendrucke in ihrem Plasma aufbringen können als diploide Hefen. Diese Tatsachen sind in biologischer und physiologischer Hinsicht sehr interessant. „Jochhefen“ bzw. haploide Hefen wurden stets aus Substraten mit hohen Zuckerkonzentrationen isoliert, so

¹⁾ Kroemer, K. und Krumbholz, G. Untersuchungen über osmophile Sproßpilze, I—V Arch. f. Mikrobiol. Bd. 2. u. 3, 1931/32.

²⁾ Winge, Oe. and Laustsen, O. On two types of spore germination, and on genetic segregations in *Saccharomyces*, demonstrated through single-spore cultures. Comptes rendus des travaux du laboratoire Carlsberg serie physiologique. B. 6, S. 99—116, Kopenhagen, 1937.

von Kroemer und Krumbholz aus Rheingauer Trockenbeereauslesen, welche schon Konzentrationen bis zu 50 Gewichtsprozent erreicht haben, dann von Sacchetti¹⁾ aus Traubenmostkonzentraten, welche bis 60 Gewichtsprocente Zucker enthalten können. Weiterhin wurden „Jochhefen“ in Europa und Amerika aus Honig und schließlich auch aus getrockneten Datteln isoliert.

Bisher ließ sich noch keine haploide Hefe finden, welche so gärtüchtig gewesen wäre, daß man sie zur schnelleren Vergärung, z. B. höher konzentrierter Traubenmoste, wie Trockenbeereauslesen, hätte praktisch empfehlen können. Wir haben in Geisenheim aus einer Trockenbeerauslese des Kaiserstuhls (Baden) eine hochgärrige Rasse isoliert, welche aber diploid ist, da sie ohne Kopulation 4 Sporen nach dem *Saccharomyces*-Typ bildet.

In Zukunft wird man sehr wahrscheinlich die ganze Untergattung *Zygosaccharomyces* in der Hefesystematik vollständig fallen lassen.

Die zugespitzten oder Apiculatushefen
(*Kloeckeraspora* Niehaus).

Ordnet man die Hefen nicht nach systematischen Gesichtspunkten, sondern nach ihrer praktischen Bedeutung bei der Weinbereitung, so muß man die zugespitzten Hefen sogleich an die Gattung *Saccharomyces* anschließen; denn wie schon Müller-Thurgau 1880—1890 in Geisenheim feststellte, sind es auch in Traubenmosten fast immer Apiculatushefen, welche zuerst den Most bevölkern, und erst nach einigen Tagen findet eine Um-

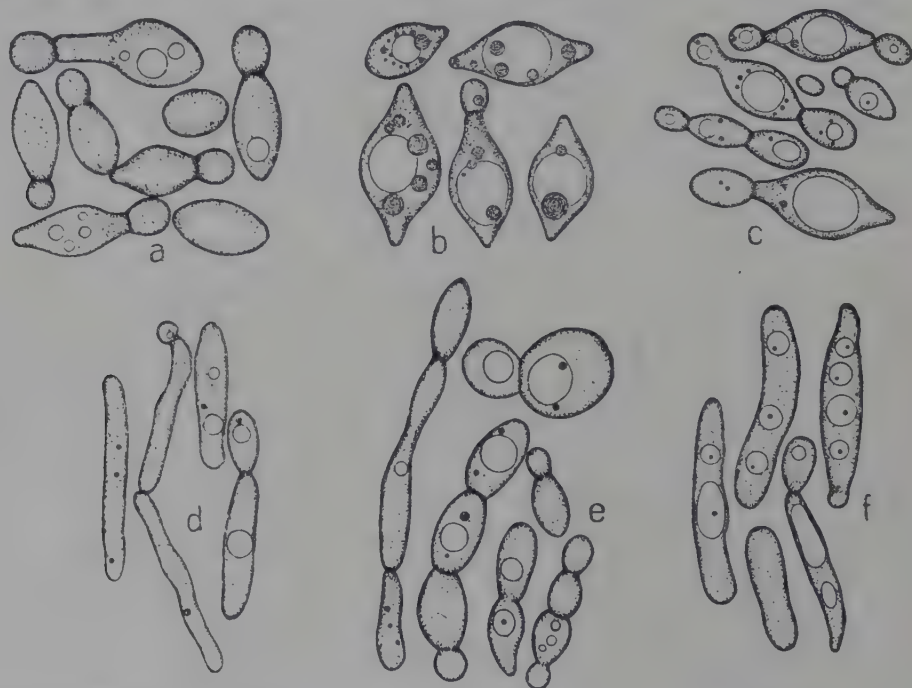


Abb. 27. Verschiedene Zellformen von Apiculatushefen nach Ch. Niehaus. b und c typische „zugespitzte“ Zellformen.

schichtung in der Hefepopulation statt, indem die Apiculatushefen zahlenmäßig und vor allem physiologisch von den echten Weinhefen durch lebhaftere Gärtätigkeit überflügelt werden.

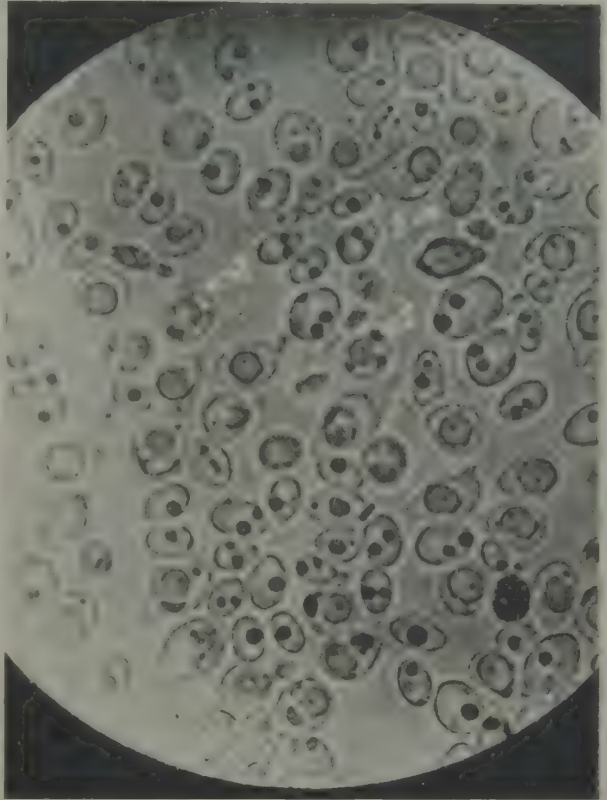
¹⁾ Sacchetti, Mario. Ricerche sulla fermentazione di un mosto d'uva concentrato. Archiv f. Mikrobiol. Bd. 3, 473—491, 1932.

Die landläufigen, spontan vergorenen Obst- und Beerenweine werden in der Regel nur von Apiculatushefen vergoren. Die Apfelweine ländlicher Gegenden außerhalb der Weinbaugebiete erhalten ihre typischen Bukette durch diese „wildten“ Hefen, wie man sie häufig auch bezeichnet.

Die Streitfrage, ob die Apiculatushefen wirklich echte Hefen, d. h. Saccharomyceten sind, benötigte zu ihrer restlosen Klärung rund 50 Jahre. An ihr waren fast alle Hefespezialisten jedes Dezenniums beteiligt. Früher war man der Auffassung, daß die Apiculatushefe keine echte Hefe wäre und nannte sie u. a. auch *Pseudosaccharomyces apiculatus* (von griechisch pseudos = falsch).

Der Streit um die Frage, ob echte oder unechte Hefe, wurde endgültig erst 1939 von R. Dvornik¹⁾ entschieden, und zwar dahingehend,

Abb. 28. *Kloeckeraspora apiculata* in Sporenbildung. Bei 1 eine Zelle, welche noch die Anlage von 4 Sporen zeigt. Bei 2 und 3 der für diese Hefegattung typische Fall, daß von den 4 Sporenanlagen nur eine weiterentwickelt wird. Das Material der 3 verkümmerten Schwestersporen ist in den Asci 2 u. 3 noch schön zu sehen.



daß es sich um eine echte, sporulierende Hefe handelt. Je Askus wird meistens eine, ab und zu werden auch 2, selten noch 4 Sporen gebildet.



Die Streitfrage war eigentlich schon 1932 durch die mit Mikrophotographien belegte Arbeit von Charles Niehaus entschieden worden. Aber 1935 wurde von Castelli diese Arbeit von Niehaus angegriffen und behauptet, Niehaus hätte

Abb. 29.
Keimende Sporen
von *Kloeckeraspora apiculata*.

¹⁾ Dvornik, R. Über die Sporulation der Apiculatushefen. Cbl. Bakter. usw., Abt. II, Bd. 98, S. 315–344, 1938. (Darin ist die gesamte Literatur über die Streitfrage Sporulation der Apiculatushefen aufgeführt.)

Fettkugeln für Sporen gehalten. Daher wurde von Dvornik diese Streitfrage erneut bearbeitet. Dvornik brachte nicht allein neue Mikrophotographien von Asci mit Sporen, sondern vor allem Aufnahmen aller Phasen der Sporenkeimung (siehe Abb. 28), welche die Einwände *Castellis* restlos entkräftigten.

Unterdessen wurden die Arbeiten von Niehaus und Dvornik international anerkannt, wie aus Publikationen des bekannten italienischen Hefeforschers Sacchetti¹⁾ und des amerikanischen Hefespezialisten Henrici²⁾ hervorgeht. Letzterer ist lediglich nicht mit der von Niehaus vorgeschlagenen Gattungsbezeichnung *Kloeckeraspora* einverstanden und meint, daß die Schaffung einer neuen Gattung unnötig gewesen und die *Apiculatus*-hefe der schon bestandenen Gattung *Hanseniaspora* Zikes hätte zugerechnet werden können. Niehaus und Dvornik haben aber deswegen die Zugehörigkeit zur Gattung *Hanseniaspora* bezweifelt, weil letztere 2—4 anfangs runde und bei der Keimung hutförmig werdende Sporen bildet, während die von ihnen studierten Hefen in der Regel nur eine einzige runde, bei der Keimung nicht hutförmig werdende Spore bildeten. Der Vorschlag einer eigenen neuen Gattungsbezeichnung von Niehaus ist also nicht so unbegründet wie Henrici es hinstellt.

Die morphologischen Merkmale von *Kloeckeraspora* sind:

1. In der Regel bedeutend kleinere Zellen als *Saccharomyces*, manchmal bis Bakteriengröße heruntergehend. Wegen der ausgesprochenen Kleinheit bleiben die Zellen dieser Gattung länger schweben und sedimentieren bedeutend schlechter als die meist bedeutend größeren Zellen von *Saccharomyces*- und anderen Hefearten. Sie stellen den Hauptteil der sog. „Flughefen“, die sich bei der Schaumweinbereitung nach dem Flaschengärverfahren bedeutend schlechter abrütteln lassen, beim Rüttelprozeß nachhinken, beim Enthefen (Degorgieren) aufgewirbelt werden und leichter der Enthefung des Weines entgehen (siehe Kapitel Schaumweinbereitung).
2. Vorkommen einseitig oder zweiseitig zugespitzter Formen. Der Prozentsatz typischer *Apiculatus*-formen ist von den Umweltsbedingungen abhängig und schwankend. Im Höchsthalle sind 50% der Zellen zitronenförmig.
3. Die Sprossung erfolgt an den polaren Enden der Zellen und auf breiterer Basis als bei *Saccharomyces*-Zellen.
4. Sporenzahl je Askus in der Regel 1, manchmal 2, selten noch 4. Die Einzahl kommt dadurch zustande, daß ursprünglich 4 Sporen angelegt werden. Das zeigen die Gruppierungen der Chondriosomen vor der eigentlichen Sporenformierung. Sodann entwickelt sich nur eine Spore auf Kosten der 3 Schwestersporen. Immer liegt daher in einem *Kloeckeraspora*-Askus deutlich sichtbar das Material der unterdrückten Schwestersporen (siehe Abb. 28) neben der einen keimfähigen Spore.
5. Sporen rund und glatt (also ohne Warzen oder Leisten) mit einer zentral gelegenen Fettkugel.
6. Die Spore quillt vor der Keimung zuerst auf und keimt meist seitlich.

¹⁾ Sacchetti, M. Sulla sporificazione dei lieviti apiculati. La ricerca Scientifica, Bd. 10, S. 422—426, 1939.

²⁾ Henrici, A. T. The Yeasts Bakteriolog. Rev. Bd. 5, S. 97—179, 1940.

7. Die Fähigkeit der Sporenbildung geht in künstlicher Kultur innerhalb weniger Monate stark zurück und verschwindet schließlich gänzlich. Will man die Sporenbildung studieren, so muß man Stämme frisch aus der Natur isolieren.

Von großem praktischem Interesse sind die physiologischen Eigenschaften der *Apiculatus*-Hefen.

1. Sie bilden wenig Alkohol: als höchste Leistung haben einige wenige Rassen bei Niehaus 10 Vol. % erreicht, im Durchschnitt hören sie schon bei 5–6 Vol. % zu gären auf.
2. Es fehlt den meisten Vertretern dieser Gattung die Fähigkeit, Rohr- und Malzzucker zu vergären, und zwar infolge Fehlens der Enzyme Invertase und Maltase.
3. Sie bilden bei der Gärung mehr flüchtige Säuren als *Saccharomyces*-Arten, nämlich 0.5–1.2⁰₀₀ gegenüber 0.4–0.6⁰₀₀ der zuletzt genannten. Ebenso bilden sie mehr flüchtige Ester, wodurch z. B. Traubenmoste, wenn man sie ausschließlich von *Kloeckeraspora*-Arten vergären läßt, ein apfelweinähnliches Bukett erhalten.
4. Sie besitzen eine außerordentlich starke Vermehrungsfähigkeit. Dadurch ist es verständlich, daß sie in frischen oder gerade in Gärung kommenden Traubenmosten 90–95 % der Hefeflora ausmachen und erst später zahlenmäßig von den gärungstüchtigeren *Saccharomyces*-Arten überholt werden.
5. Der Optimal-Redoxbereich liegt bei *Kloeckeraspora*-Arten höher als für die Gattung *Saccharomyces*, daher sind sie empfindlicher gegenüber schwefliger Säure. Zugleich ist dies der Grund, weswegen sie bei einer Konkurrenz bzw. Parabiose mit *Saccharomyces*-Arten den kürzeren ziehen. Auch ihr geringeres Gärungsvermögen hängt damit zusammen.
6. Die vegetativen Zellen von *Kloeckeraspora* bleiben im Wein länger leben als diejenigen von *Saccharomyces*. Wenn aus 15–20jährigen Weinen und Schaumweinen überhaupt noch Hefen lebend zu isolieren sind, dann sind es Vertreter der Gattung *Kloeckeraspora*.
7. Eigenartig ist die Empfindlichkeit der *Apiculatus*hefen gegenüber Gerbstoff (siehe Diagramm 174). Vielleicht ist diese der eigentliche Grund weswegen seit altersher von den Schaumweinküfern den Cuvées kleine Mengen Tannin (0.5–5 g je Hektoliter) zugesetzt werden.

Die *Apiculatus*hefen spielen wegen ihrer Häufigkeit in der Praxis der Trauben-, Obst- und Beerenweinbereitung und auch zuweilen bei der Schaumweinbereitung eine große Rolle. Sie sind es, welche die ländlichen Obstweine und die häuslich hergestellten Beerenweine spontan vergären, wenn keine Reinzuchthefen einer echten Weinhefe zugesetzt werden. Wären die zugespitzten Hefen von Natur gärtüchtiger, dann wäre keine Hefereinzucht notwendig gewesen. Wenn nun der Praktiker von diesen Tatsachen keine Ahnung hat oder glaubt, sie negieren zu können, so kann er zuweilen schweres Lehrgeld bezahlen, vor allem dann, wenn er alkoholreichere, sog. Dessertweine ohne Kulturhefezusatz herstellen will. Sind zufällig in einem Gärgut von Natur aus gärtüchtige Vertreter der Hefegattung *Saccharomyces*, so geht die Sache gut. Sowie aber diese fehlen, stellen sich automatisch Gärverzögerungen, Fehlgärungen und Weinkrankheiten ein. Die dadurch verur-

sachten wirtschaftlichen Verluste stehen in keinem Verhältnis zu der kleinen Mühe und dem geringen Geldaufwand der Zugabe einer Anzucht einer Kulturhefe.

Die Gattung *Saccharomycodes* Hansen.

Die morphologischen Merkmale dieser Gattung sind:

1. Zellgröße relativ stattlich, 6–18 μ lang und 4–8 μ breit.
2. Zellform: elliptisch, zylindrisch, zitronen- und wurstförmig, also sehr vielgestaltig.
3. Sprossung: auf breiter Grundlage. Trennung der Tochterzelle nicht durch Abschnürung, sondern durch Querwandbildung.
4. Kopulationen zwischen Zellen, zwischen Sporen im Askus, zuweilen auch zwischen einer Spore und einer haploiden Zelle.
5. Sporenbildung: 1–4 je Askus, 3,2–4,6 (selten 5–8) μ im Durchmesser, Sporen rund und glatt, kopulieren vielfach paarweise im Askus (Sporenzygote). Zuweilen verschmelzen sogar alle 4 Sporen eines Askus und keimen gemeinsam zu einer großen Zelle aus. Vielfach werden bei der

Sporenbildung nicht sämtliche Chondriosomen der Askuszelle verbraucht, bleiben übrig und sitzen dann den Sporen auf, wodurch letztere gekörnt erscheinen.



Abb. 30. Vegetative Zellen, Asci und Sporen. a von *Saccharomycodes Ludwigii*, b von *Schizosaccharomyces octosporus*.

Die physiologischen Merkmale dieser Gattung sind:

1. Traubenzucker und Fruchtzucker wird stürmisch vergoren, nach Stelling-Dekker auch Mannose und Saccharose, während Marcilla und Feduchy einen *Saccharomycodes*-Stamm isolierten, der die zuletzt genannten Zuckerarten nicht vergären konnte. Laktose, Galaktose, Arabinose und Xylose wurde in keinem Fall vergoren.
2. Die Gärkraft ist niedrig. Bisher erreichte Höchstleistung nach Kroemer und Heinrich 8,8 Vol.%, Gärverlauf träge. Bei der Gärung wenig trübend. Die Gärung geht vom Bodensatz aus, während die darüber stehende Flüssigkeit klar bleibt.
3. Erstaunliche Resistenz gegenüber SO_2 . Marcilla und Feduchy isolierten einen Stamm, der noch spanische Traubenmoste von 2000 mg/l Gesamt- SO_2 und 500 mg/l freiem SO_2 anzugären vermochte.
4. Ebenso erstaunliche Resistenz gegenüber Essigsäure. Kroemer isolierte einen Stamm, der noch bei 22 g Essigsäure je Liter zu gären vermochte.

5. Die Resistenz gegenüber SO_2 hängt mit der Eigenschaft zusammen, aus einem relativ niedrigen rH-Niveau heraus noch eine Reduktion einleiten zu können. Vor Beginn der eigentlichen Gärung hebt *Saccharomycodes* das rH-Niveau, wobei die freie schweflige Säure zurückgeht oder gar verschwindet. Sodann setzt erst die Gärung ein. Diese Hefe schafft sich sozusagen zuerst ein „Sprungbrett“ für den nachfolgenden Reduktionssprung nach unten (von der rH-Kurve aus gesehen).

Saccharomycodes spielte bislang praktisch kaum eine Rolle, bis Marcilla und Feduchy¹⁾ 1943 zeigten, daß man diese Hefe benutzen kann, um stumm geschwefelte Traubenmoste in Gärung zu bringen und in Weine zu verwandeln. Da aber *Saccharomycodes* an sich gärschwach ist, verfahren die spanischen Forscher so, daß sie diese Hefe lediglich zum Angären benutzten, sodann zur Durchgärung eine gärkräftige echte Weinhefe zugaben. Sie benutzten also die Gattung *Saccharomycodes* zu einer „Desulfitation“, also einer Entschwefelung oder von rH-Gesichtspunkten aus betrachtet, zum Erhöhen des rH-Spiegels.

Bis jetzt sind folgende Arten aufgestellt und beschrieben worden:

1. *Saccharomycodes Ludwigii* Hansen.
2. „ *Behrensianus* (Behrens) Klöcker
3. „ *bisporus* Castelli
4. „ *Mestris* Marcilla et Feduchy (benannt nach dem spanischen Oenologen Mestre, der über das Problem der „Desulfitation“ arbeitete).

Von Kroemer²⁾ und Heinrich ist 1922 eine Varietät „vini“ von *Saccharomycodes Ludwigii* beschrieben worden, welche sie aus einem Geisenheimer Traubenmost, der mit 312 mg SO_2 /Liter versetzt worden war, isolierten. Sie gär noch bei Gaben bis 470 mg SO_2 im Liter. Kroemer hat diese Hefe wiederholt in stark geschwefelten Rheingauer Mosten beobachtet. Ebenso hat schon 1911 Mensio³⁾ in stark geschwefelten italienischen Traubenmosten *Saccharomycodes* vorgefunden und Isolierungen vorgenommen.

Mir selbst begegnete diese Hefegattung überraschenderweise in einer in ihrer Gärung steckengebliebenen Sektfüllung. Der seltsame Fall klärte sich dahingehend auf, daß der zuständige Kellermeister glaubte, sich das Abkochen des zum Hefeanatz verwendeten Weines sparen und durch reichliches Einschwefeln der Ansatzflüssigkeit ersetzen zu können. Dies ging in der Tat längere Zeit ganz gut. Aber damit betrieb der Kellermeister ein Selektionsverfahren auf SO_2 -Grundlage. Eines Tages hatte er in seinem angeblichen Reinzuchthefe-Ansatz nur mehr *Saccharomycodes Ludwigii*. Diese Hefegattung eignet sich aber wegen ihrer relativ geringen Gärkraft und Empfindlichkeit gegenüber höheren Alkoholkonzentrationen nicht für die Schaumweinherstellung. Kein Wunder, daß die Füllung in der Gärung „hängen“ blieb, ausgeleert und neu angesetzt werden mußte.

¹⁾ Marcilla Juan y Feduchy Marino. Contribucion al estudio de una levadura perteneciente al genero „*Saccharomycodes*“, capaz de fermentar mostos de uva fuertemente sulfitados (mostos azufrados), sin previa desulfitacion. Ministerio de Agricultura, Madrid, 1943.

²⁾ Kroemer, K. Über eine in überschwefelten Mosten auftretende Hefe der Gattung *Saccharomycodes*. Festschrift zum 50jährigen Jubiläum 1922.

³⁾ Mensio, C. Fermentazione di mosto fortemente solfurati. Di un nuovo fermento in enologia appartenente al genere *Saccharomycodes*. Le Staz. sperim. agrar. ital. Bd. 44, A. 829—842, 1911.

Die Gattung Schizosaccharomyces Lindner¹⁾.

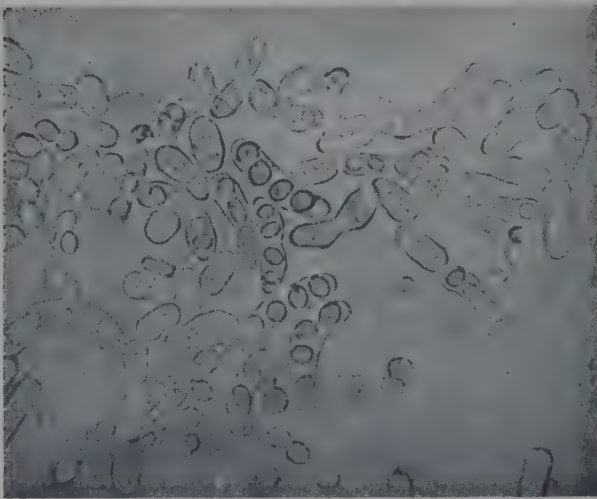
Paul Lindner hat 1893 diese Gattungsbezeichnung vorgeschlagen, weil sich diese Hefe in morphologischer Hinsicht wesentlich von der Gattung *Saccharomyces* unterscheidet, indem sie neue Zellen nicht durch Sprossung,

sondern durch Spaltung (schizein griech. = spalten, trennen) bildet. Streng genommen, müßte man diese Pflanze zu den Spaltpilzen, den Bakterien rechnen. Denn die



Abb. 31. *Schizosaccharomyces Pombe*. Vegetative Zellen in Teilung begriffen. Die Chondriosomen werden zuerst in zwei, dann in 4 Gruppen aufgeteilt. Dann erst wird die neue Querswand gebildet. Vergrößerung etwa 2500fach.

Tatsache, daß sie wie Hefe gärt, berechtigt ebenfalls nicht, sie deswegen als „Hefe“ anzusprechen, nachdem die Bakteriologie mehrere Bakterien kennen lernte, deren alkoholisches Gärungsvermögen echten Hefen nicht nur nicht nachsteht, sondern diese sogar noch übertrifft (siehe das *Terrobacterium mobile* Lindner).



Wir sehen an dieser Gattung, daß sowohl in morphologischer als auch in biochemischer Hinsicht keine scharfen Trennungslinien zwischen dem Reich der Bakterien (Spaltpilze) und dem der Hefen (Sproßpilze) zu ziehen ist.

Abb. 32. *Schizosaccharomyces Pombe* in Sporulation. Der Sporulation gingen hier Zygotenbildungen voraus.

Lindner isolierte seine Spalthefe aus afrikanischem Hirsebier, das dort Pombe bezeichnet wird. Der Holländer M. W. Beijerinck berichtete 1894 über Isolierungen dieser Spalthefe von Korinthen und Feigen aus Griechenland und Kleinasien. Beijerincks *Schizosaccharomyces* bildete je Askus 8 Sporen, während der Lindners nur 4 Sporen bildet. Daher stellte Beijerinck die Spezies „*octosporus*“ auf. Der Schweizer A. Osterwalder isolierte 1924 eine Spalthefe aus stark geschwefeltem Traubenmost. Weil sie schnell Gelatine zu verflüssigen vermochte, wähnte sich Osterwalder berechtigt, ebenfalls eine neue Spezies, nämlich „*liquefaciens*“ (= flüssig machend) aufzustellen. Stelling-Dekker er-

¹⁾ Literatur über *Schizosaccharomyces* siehe Stelling-Dekker „Die sporengen Hefen“. Verhandl. der kgl. Acad. Amsterdam, Bd. 28, 1931.

kannte jedoch die Existenzberechtigung einer eigenen Spezies „*J. guatemalensis*“ nicht an, weil auch Beijerincks *Schizosaccharomyces octosporus* sich als stark Gelatine verflüssigend erwies.

Der Däne A. Jørgensen isolierte eine Spalthefe aus Honig, der Japaner Nakazawa aus Rohrzuckermaislarve der Insel Formosa. Auch die von beiden Autoren aufgestellten Arten *mellacei* und *formosensis* haben keine Existenzberechtigung, sondern erwiesen sich als identisch mit der Spezies „*Pombe*“ Lindners.

In Traubenweinen ließ sich in meiner Praxis *Schizosaccharomyces* außerordentlich selten feststellen, wohl deswegen, weil sich diese Hefe meistens gegenüber einer Konkurrenz mit *Saccharomyces* nicht durchsetzen kann und von letzterer alsbald überflügelt wird. Wenn dagegen die Konkurrenz mit *Saccharomyces* aus irgendwelchen Gründen fortfiel, ließ sich *Schizosaccharomyces* feststellen, so einige Male in trüb gewordenen Traubensüßmosten. Einmal begegnete mir *Schizosaccharomyces* in einer ganzen Reihe von bombierten Konservendosen mit Kubahonig.

In der Praxis der Weinkellerwirtschaft spielten die Spalthefen eine sehr geringe Rolle. Jedoch ist dann und wann mit ihrem Vorkommen zu rechnen. In praktischer Hinsicht ist bemerkenswert, daß man in einer staatlichen Schaumweinkellerei auf der Insel Krim eine Rasse von *Schizosacch. Pombe* mit Erfolg zur Schaumweinbereitung benutzte. Sie wurde auch in Deutschland probeweise bei einer Schaumweinfüllung benutzt, wobei man zwar mit ihrer Leistung zufrieden war, aber sonst keinerlei Vorteile gegenüber den altbewährten Schaumweinrassen von *Saccharomyces cererisiae* feststellen konnte.

In theoretischer Hinsicht ist jedoch die Gattung *Schizosaccharomyces* sehr interessant.

Zunächst in biologischer Hinsicht. Beijerinck beobachtete bereits das Entstehen einer kleinzelligen, asporogenen „Art“ aus seiner „*Octosporus*-Hefe“. Nach dem heutigen Stand unseres Wissens und nach den Mikrophotographien Beijerincks erblicken wir in der „Art“ *asporus* lediglich eine haploide Phase dieser Spalthefe, bestehend aus geschlechtlich gleichgestimmten Zellen, daher die Asporogenität. Bei geschlechtlich verschiedenen (+ und -) Sporen oder vegetativen Zellen treten sehr leicht Kopulationen auf. Die diploidisierten Zellen bilden dann schon auf Agarnährböden Sporen. Sehr wahrscheinlich ist die „*Octosporus*-Hefe“ Beijerincks nichts anderes als eine tetraploide Form von *Schizosaccharomyces Pombe*.

Die haploide Form unterscheidet sich nicht allein morphologisch, sondern interessanterweise auch biochemisch von den diploiden und polyploiden Formen. Die haploide Form ist beinahe ganz rund und nur bei der Teilung etwas ellipsoidisch gestreckt. Die Kolonien der haploiden Form erscheinen auf Agar bräunlich, die der polyploiden weiß. Die haploide Form bildet nach Beijerinck bei der Gärung mehr Säure, während die polyploiden Formen ein starkes Gelatineverflüssigungsvermögen aufweisen.

Die asporogene und 4sporige Form vergärt Rohrzucker schnell und lebhaft, die 8sporige Form dagegen vermag Rohrzucker nicht zu invertieren und zu vergären. Interessant ist, daß sich die Wände der Sporen von *Schizosacch. octosporus* mit Jod intensiv blau färben. Nach Lindner¹⁾ hat sich die Spalthefe in argentinischen und mexikanischen Brennereien sehr bewährt, indem

¹⁾ Lindner, Paul. Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 6. Aufl., Parey, Berlin, 1930.

sie bei den dort unvermeidbar höheren Gärtemperaturen (32—42 °) der Maischen um 10% höhere Alkoholausbeuten lieferte als gewöhnliche Hefen.

Weiterhin sind die Spalthefen zum Studium der sog. Chondriosomen sehr geeignet, die im Stadium der Sprossung und später unmittelbar vor der Sporenbildung ohne Eingriffe und Farbstoffe sehr schön *intra vitam* zu beobachten sind (siehe die Abbildungen).

Die sog. Kahlmhefen¹⁾.

Die Bezeichnung Kahlmhefen, aus der Küfersprache in die Wissenschaft übernommen, erfuhr im Laufe der Zeit eine Wandlung. Früher bezeichnete man alle Hefen, welche auf dem Wein eine Haut bilden, als Kahlmhefen. So sah man auch in Südspanien, im Jerezgebiet, absichtlich auf dem Wein gezüchtete Hefedecken als Kahl- oder *Mycoderma*hefen an.

Es stellte sich jedoch in der Neuzeit unumstößlich sicher heraus, daß Rassen der echten Weinhefe unter bestimmten Bedingungen ebenfalls „Kahlmdecken“ bilden können, ja daß bei Luftzutritt und nicht zu hohem Alkoholgehalt die Mehrzahl der Weinheferassen in ein „Hautstadium“ eintreten können.

Also muß man heute zwischen fakultativen und obligaten Kahlmhefen unterscheiden. Bei den ersteren nimmt die Kahlmhefe nur einen Sektor ihres Lebenskreislaufes ein, während die letzteren während ihres ganzen Lebenskreislaufes im Kahlmstadium leben. Die eigentlichen, echten Kahlmhefen haben sich mehr auf die oxydative Phase spezialisiert und beherrschen die alkoholische Gärungsphase nur noch wenig. Bei allen ist aber unverkennbar noch ein Gärungsvermögen vorhanden, bei der Gattung *Willia* ist es noch am stärksten ausgeprägt, bei *Pichia* schon etwas geringer und bei der Gattung *Mycoderma* am schwächsten ausgeprägt. Die Kahlmhefen haben in praktischer Hinsicht eine große Bedeutung. Sie sind gefürchtete Weinschädlinge und müssen zu jeder Zeit unterdrückt werden. Die Kenntnis der Biologie und Physiologie dieser Hefen ist von großer praktischer Bedeutung, weil sich daraus die Bekämpfungs- und Unterdrückungsmöglichkeiten ableiten.

Wenn auch die Systematik dieser Hefen für den Kellerwirt von geringer Bedeutung ist, so ist sie doch gerade bei den Kahlmhefen nicht ohne praktischen Wert, weil jede Gattung mit prägnanten physiologischen und biochemischen Merkmalen ausgezeichnet ist. Wenn es auch neben den eigentlichen Weinkahlmhefen zahlreiche Arten gibt, die zum mindesten auf Most oder alkoholarmen Weinen ebenfalls Kahlmdecken bilden können, so spielen doch in der alltäglichen Weinkellerpraxis eigentlich nur die drei Gattungen *Mycoderma*, *Pichia* und *Willia* eine Rolle.

Die Kahlmhefen bilden auf Flüssigkeiten „Schwimmdecken“, welche sich vor allem in der Jugend durch eine auffallend weiße Farbe auszeichnen. Eine *Pichia*-Spezies bekam die Bezeichnung „*farinosa*“, die „mehlige“, weil das befallene Substrat wie mit Mehl bestreut aussieht. Über die Schwimmfähigkeit und die weiße Farbe von Kahlmhefen sind in der älteren Literatur Betrachtungen und Erklärungen zu finden, die nicht den Tatsachen ent-

¹⁾ Die gesamte bisher erschienene Literatur über Kahlmhefen ist zusammengestellt in Baltatu, E. *Mycoderma* als echte *Saccharomyceten*. Cbl. Bakter. Abt. II usw. Bd. 101, S. 196—225, 1939.

sprechen. R. Meißner¹⁾, der sich eingehend speziell mit den Kahlmhefen des Weines beschäftigte, erklärte die Schwimmfähigkeit und die weiße Farbe der Kahlmhefen mit einer Lufthülle, mit der jede einzelne Zelle umgeben wäre.

Als Beweis hierfür führt Meißner Experimente an, in denen er Kahlmhefekulturen in Rollflaschen evakuierte. Bei diesem Prozeß würden die Kahldecken durch die Entfernung der Lufthülle absinken.

Dieses Experiment ist jedoch kein Beweis für die Richtigkeit der Meißnerschen Lufthüllentheorie. Die Kahldecken sinken schon bei leichten Erschütterungen ab. Bei der Evakuierung einer Kahlmhefekultur entweicht auch immer in der Flüssigkeit gelöste Kohlensäure, und zwar um so mehr, je mehr die betreffende Art oder Rasse noch zur alkoholischen Gärung befähigt ist. Diese aufsteigenden Kohlensäurebläschen erschüttern schon die leichten Schwimmdecken, so daß sie absinken.

Die Meißnersche Lufthüllentheorie ist falsch. Die Kahlmhefen schwimmen ohne jegliche Lufthülle allein auf Grund des Unterschiedes des spezifischen Gewichtes ihres Körpers und der sie tragenden Flüssigkeit.

Man kann häufig beobachten, daß in älteren Kahlmhefekulturen durch die von ihnen selbst bewirkte Veränderung des spezifischen Gewichtes der Nährflüssigkeit ihrer allernächsten Umgebung die gesamte Decke ganz langsam im Laufe von Wochen absinkt, während sich an der Grenzfläche Luft-Flüssigkeit wieder eine neue Decke bildet. Das Schwimmen und die Deckenbildung wird schließlich durch das eigenartige Sprossen und das zusammenhängende Wachsen, das zur Bildung großer Sproßverbände führt, wesentlich erleichtert.

Was die weiße Farbe der Kahlmhefen betrifft, so rührt diese ebenfalls nicht von einer Lufthülle her, die gar nicht existiert und physikalisch nicht existieren kann, sondern von dem Verhalten dieser Hefevegetationen gegenüber dem auffallenden Licht. Sie reflektieren in starkem Maße diffus das auffallende Licht. An der diffusen Reflexion des Lichtes sind vor allem die für alle Kahlmhefen typischen, zahlreichen Fettkügelchen und die Grenzflächen, welche das Protoplasma einerseits zum umgebenden Medium, andererseits mit den sog. Vakuolen bildet, beteiligt. Mit zunehmendem Alter werden jedoch die Fettkugeln größer und andererseits die Vakuolen kleiner. Dadurch erscheinen die Hefdecken sodann nicht mehr ganz schneeweiß, sondern schmutzig gelblich.

Für die Praxis der Weinpflege sind folgende chemisch-physiologische Eigenschaften der Kahlmhefen bedeutsam:

1. Sie vermindern den Alkohol der befallenen Weine unter gleichzeitiger Bildung von flüchtigen Säuren.
2. Nach der Veratmung des Alkohols gehen die Kahlmhefen an die Zerstörung der einesteils selbst erzeugten organischen Säuren, andererseits derjenigen des Weines, wobei zuerst die Apfelsäure und ganz zuletzt evtl. auch die Weinsäure verschwindet.
3. Die Kahlmhefen senken sehr stark und erstaunlich schnell das Redoxpotential der befallenen Weine, wodurch eine Bleichung und evtl. Entfärbung eintritt. Die Tatsache, daß unter einer Kahlmhefedecke sehr stark das Redoxpotential fällt, besagt zunächst, daß diese Hefen reduzierend bzw. dehydrierend und nicht, wie man früher glaubte, oxydierend auf den Wein einwirken. Wahrscheinlich spielt der Luftsauerstoff, den sie zur Deckenbildung benötigen, lediglich (wie bei den Essigbakterien) die Rolle eines Wasserstoffakzeptors. Die Kahlmhefen senken

¹⁾ Meißner, R. Technische Betriebskontrolle im Weinfach. Verlag Ulmer, Stuttgart 1920 (S. 44) Mikroskopische Bilder des Mostes und Weines. Ebenda, Stuttgart, 1923.

also das Redoxpotential ihrer flüssigen Umgebung und schalten dadurch Konkurrenten aus, deren Redoxoptimum höher liegt. Damit hängt auch die in der Praxis bekannte Erfahrungstatsache zusammen, daß sie mittels normaler SO_2 -Gaben nicht zu unterdrücken sind. Ihre Wirkung auf den Wein ist hinsichtlich des Redoxpotentials dieselbe wie die einer leichten bis mittleren Schwefelung.

Diese biochemischen Wirkungen der Kahlmhefen auf den Wein sind von Küfern und Winzern schon lange beobachtet worden. So stößt man in Süddeutschland bei kleinen Winzern heute noch auf die hartnäckige Behauptung, daß Kahlmhefen den ländlichen Apfelweinen (dem sog. „Moscht“) nichts

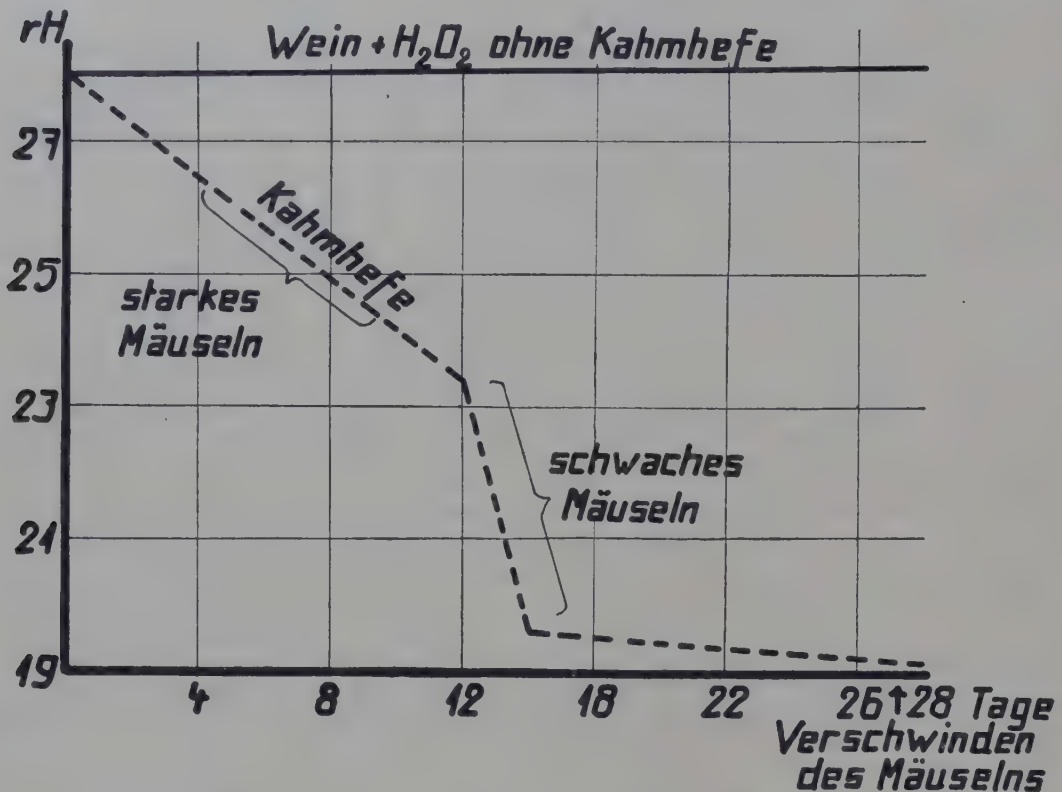


Abb. 33. Die Kurve der rH-Zahlen zeigt, daß die Kahlmhefen die rH-Zahl des Weines um rund 9 rH-Einheiten senkten, wodurch das durch H_2O_2 -Zusatz künstlich hervorgerufene „Mäuseln“ verschwand.

schaden, daß sie den Wein sogar konservieren würden. Es steckt hinter dieser Behauptung ein Quentchen Wahrheit, trotzdem beruht sie, im ganzen betrachtet, auf einem Irrtum. Wenn auch kahlmige Weine nie hochfarbig (rahn) oder mäuselnd werden, so bewirken die Kahlmhefen doch mit der Zeit einen erheblichen Schwund des Alkohols, verbunden mit einem merklichen Anstieg der flüchtigen Säure. Bei längerer Einwirkung verleihen sie dem Wein einen ranzigen, unangenehm hefigen Geschmack.

Von pflanzenphysiologischen Gesichtspunkten aus ist der Stickstoffhaushalt der Kahlmhefen interessant. Sie benötigen zum ersten Wachstum, das sehr schnell erfolgt, unbedingt gebundenen Stickstoff. Sie verwerten von anorganischen Stickstoffverbindungen vor allem Ammoniumsalze, jedoch keine Nitrate, von organischen N-Verbindungen Harnstoff, Asparagin und Pepton.

Durch ihr schnelles Wachstum kommt es unmittelbar unter den Kahlmehlecken nach einiger Zeit zu einem erheblichen Rückgang assimilierbarer N-Verbindungen, der das Wachstum der Kahlmehle vollständig zum Stillstand bringen könnte, wenn sie nicht in der Lage wären, ihren N-Haushalt auf Luftstickstoff umzustellen. (Siehe Kapitel N-Haushalt der Hefe Seite 52).

Eine weitere biologische Eigentümlichkeit der Kahlmehle ist die Exkretion oder Auswanderung ihrer Chondriosomen im späteren Lebensalter, wodurch eine Kokkeninfektion in Kahlmehleinkulturen vorgetäuscht werden kann. (Siehe Kapitel Cytologie der Hefe, Seite 30.) Die Exkretion dieser Plasmaorgane wird durch eine Verschiebung des pH in alkalischer Richtung sehr gefördert. Eine solche Verschiebung tritt in Kahlmehlekulturen im Laufe des Alterns von selbst durch Autolyse abgestorbener Zellen ein, wodurch Ammoniak entsteht, der stark entsäuernd wirkt.

So sind die Kahlmehle in biochemischer und biologischer Hinsicht für den Mikrobiologen in der Neuzeit zu sehr bedeutsamen Studienobjekten geworden, die uns ganz neue Einblicke in die Biochemie und Biologie der pflanzlichen Zelle gestatten.

In der praktischen Kellerwirtschaft lassen sich die Kahlmehle ohne Schwierigkeit vorbeugend bekämpfen, indem man sorgfältig darauf achtet, daß nach Beendigung der alkoholischen Gärung die Weine alsbald spundvoll aufgefüllt werden und ständig spundvoll liegen. Man darf sich nicht etwa darauf verlassen, daß über dem Wein Gärungskohlensäure ruht, denn Ribéreau-Gayon¹⁾ hat nachgewiesen, daß bereits eine CO₂-Mischung mit wenigen Prozenten Sauerstoff genügt, um Kahlmehle eine Entwicklung zu ermöglichen.

Je niedriger der Alkoholgehalt der Weine ist, um so sorgfältiger muß auf das Spundvollhalten geachtet werden. Bei den in deutschen Weinkellern üblichen Temperaturen sind die Weine mit einem Alkoholgehalt über 10 Vol. % vor dem Befall mit Kahlmehle im allgemeinen geschützt. Jedoch muß damit gerechnet werden, daß dann und wann, wenn auch selten, Arten und Rassen auftreten können, die die Grenze von 10 Vol. % Alkohol, auch bei den relativ niedrigen Kellertemperaturen überschreiten können. Erst ab 12.5 Vol. % Alkohol aufwärts ist bei uns ein Wein absolut sicher vor Kahlmehlebefall geschützt.

Mittels schwefliger Säure lassen sich die Kahlmehle mit den in der Weinkellerwirtschaft üblichen und gestatteten relativ geringen Mengen (bis 200 mg Liter) nicht mit Sicherheit unterdrücken. Die in manchen Gegenden dem Weinfäß bei Faßausschank aufgesetzten sog. „Kahlmehlhüter“ sind daher kein absolut sicherer Schutz gegen Kahlmehle, sie verzögern lediglich das Auftreten und wirken mehr gegen Essigbakterien als gegen Kahlmehle.

Wird in der Praxis im Keller auf einem im Faß lagernden Wein eine Kahlmehle angetroffen, so ist der Wein sofort spundvoll aufzufüllen, wobei ein Großteil der Kahlmehle dadurch herausgeschwemmt werden kann,

¹⁾ Ribéreau-Gayon, J. *Traité d'Oenologie*. Paris et Sièges. 1947.

indem man absichtlich so voll füllt, daß der Wein aus dem Spundloch überläuft¹⁾).

a) Die Gattung *Mycoderma*.

Mycoderma ist die am häufigsten auf dem Wein auftretende Kahlmhefe, sozusagen die Kahlmhefe par excellence. Sie ist praktisch in jedem nicht entkeimten Trauben- und Obstwein zugegen. Ihr makroskopisches Erscheinen ist lediglich von einigen Faktoren, wie Alkoholgrad, Temperatur usw., abhängig. Lassen wir einen Apfel- oder Traubenwein von 6—8 Vol. % Alkoholgehalt nur 12—24 Stunden offen an der Luft stehen, so sehen wir nach dieser



Zeit die Oberfläche mit einer feinen und von Tag zu Tag dicker werdenden, zuerst bläulichweißen, dann weißen, schließlich gelblich-schmutzigen Haut bewachsen. In 100 Fällen wird diese Hefehaut bestimmt 90mal von einem Vertreter der Gattung *Mycoderma* gestellt.

Abb. 34. Ein für die Gattung *Mycoderma* typischer Sproßverband.

Merkwürdigerweise galt bislang in der Mykologie diese Kahlmhefe als unechte, asporogene Hefe. Sie wurde in der Systematik bei den „*Pseudosaccharomyceten*“ geführt. Der Grund hierfür war, daß man bei ihr mittels der Gipsblockmethode keine Sporenbildung erzielte. Der wahre Grund für diesen Irrtum war aber die Tatsache, daß *Mycoderma*-hefen ungewöhnlich rasch auf ganz normalen flüssigen Nährmedien, wie verdünntem Traubenmost, Wein etc. zur Sporenbildung schreiten, die Sporen so schnell die Asci verlassen und wieder auskeimen, daß diese Phase im Lebenskreislauf wegen ihrer kurzen Dauer sehr leicht übersehen werden kann.

Die Zone der Sporenbildung liegt im äußersten Bereich der an den Wänden der Reagenzgläser über den Flüssigkeitsspiegel hochgewachsenen Häute, also dort, wo die Zellen schlechter ernährt und am reichsten mit Luft versorgt sind. Die direkt auf der Nährflüssigkeit selbst wachsenden Zellen teilen sich dauernd sehr lebhaft, ohne überhaupt um oder erst später Sporen zu bilden.

Der Frage der Sporulationsfähigkeit der *Mycoderma*-Arten hat 1939 Gheorge Baltatu eine eingehende Studie gewidmet. Er hat seine Befunde mit zahlreichen Mikrofotos belegt, die keinen Zweifel mehr über diese Frage offen lassen. Um in die verworrene Systematik der Kahlmhefen Ordnung zu bringen, schlug Baltatu vor, 3 Gattungen bestehen zu lassen, nämlich

¹⁾ Aus dem Mittelalter stammt eine noch heute in ländlichen Gegenden nurmehr selten geübte Methode der Kahlmverhütung durch Einhängen eines Stückes Meerrettich in den Luftraum eines in Anbruch befindlichen Faß Weines. Die ätherischen Öle der Kreuzblütler üben tatsächlich eine fungizide Wirkung aus. Auch die Kahlmhefen reagieren darauf und vermögen sich nicht bei Anwesenheit sogar äußerst geringer Mengen von ätherischen Kruziferenölen zu entwickeln. Da aber der Wein dabei einen Rettichgeschmack bekommt, hat diese Art der Kahlmhefebekämpfung nur theoretisches oder historisches, aber heute kein praktisches Interesse mehr.

1. Die Gattung *Mycoderma*, gekennzeichnet mit vorwiegend glatten, runden Sporen, mit 2 Arten, je nach der Anzahl der Sporen je Askus, nämlich *bispora* oder *tetraspora*.
2. Die Gattung *Pichia* mit vorwiegend halbkugeligen Sporen.
3. Die Gattung *Hansenula* (= *Willia*) mit halbkugeligen, durch eine Leiste hutförmig aussehenden Sporen. J. Lodder hatte bereits 1934 von 17 in der Literatur aufgeführten *Mycoderma*-Arten nurmehr 6 anerkannt.

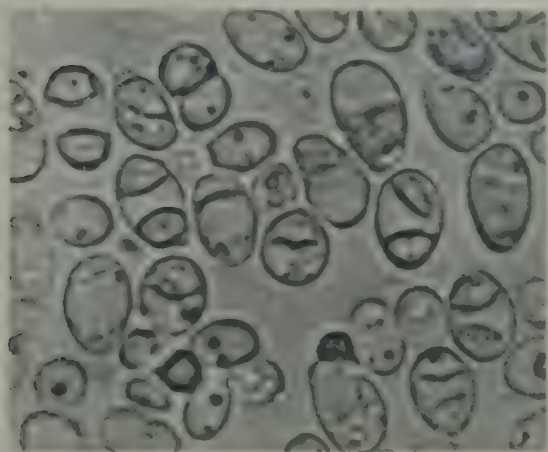


Abb. 35. Links: *Mycoderma Chevalieri* Guillermond, rechts: *M. bispora* Baltatu bei der Sporulation. Rechts sieht man neben einem freien Sporenpaar 2 leere Asci und oben ein keimendes Sporenpaar. Vergr. 1800fach. Phot. Dr. Baltatu.

Baltatu ging noch radikaler vor und glaubt, daß wir mit 2 Arten auskommen.

In morphologischer Hinsicht ist die Gattung *Mycoderma* durch eine starke Vielgestaltigkeit (Polymorphismus) gekennzeichnet. Im allgemeinen überwiegt die Walzen- bzw. Wurstform der Zellen. Auch bäumchen- oder palmettenförmige Sproßverbände sind hier häufig anzutreffen. Alle diese

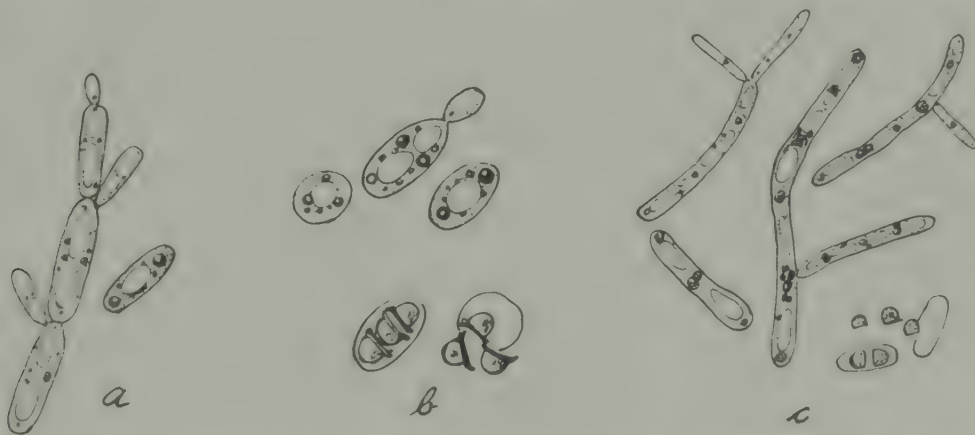


Abb. 36. Die 3 wichtigsten Kalmhefegattungen a = *Mycoderma*, b = *Hansenula* (= *Willia*), c = *Pichia*.

Merkmale sind jedoch sehr unzuverlässig und schwankend und keinesfalls von so großem diagnostischem Wert, wie es in der älteren Literatur hingestellt wurde.

Der starke Polymorphismus ist dadurch bedingt, daß die Zellen in haploider, diploider und polyploider Form auftreten und Kopulationen sehr häufig sind. Die kleinen Zellen stellen meist die haploide und die großen bis hyphenförmigen, die polyploide, durch Verschmelzung diploider Zellen entstandene Phase dar. In älteren Kulturen treten sogar Zwergformen auf, die anscheinend durch zu weitgehende Auswanderung der Chondriosomen entstehen und einen abnorm kleinen Chondriosomenbestand aufweisen.

Das Gärungsvermögen ist bei *Mycoderma* noch deutlich vorhanden. Man kann Rassen isolieren, bei denen es noch makroskopisch sichtbar ist, indem schon bei Zimmertemperatur CO₂-Blasen auftreten, welche die Kahldecke stellenweise aufblähen, hochheben und schließlich sogar durchbrechen. Bei anderen Rassen wiederum kann man die im Substrat gelöste Gärungskohlensäure nur durch leichtes Erwärmen des Hefedepots in der Handfläche oder im Wasserbad bei 30—38 ° C sichtbar machen. Alkoholbestimmungen ergaben in *Mycoderma*-Kulturen Mengen von 1—8 g/Liter, also bis zu 1 Vol. %.

Fällt auch das Gärungsvermögen der *Mycoderma*-Arten praktisch nicht ins Gewicht, so zeigt es aber in theoretischer Hinsicht deutlich die „Hefenatur“ dieser Pflanzen. Sie benehmen sich nicht nur in morphologischer und biologischer, sondern auch in chemischer Hinsicht als echte Hefen.

b) Die Gattung *Pichia* (Hansen).

Über die Zugehörigkeit dieser Kahlhefe zu den echten Saccharomyceten war von Anfang an kein Zweifel, weil ihre Sporenbildung unkompliziert und leicht zu beobachten ist. Die Zellen der Gattung *Pichia* sind meist zylindrisch, langgestreckt, hyphenartig, so daß eine innige Verflechtung (Pseudomyzelbildung) der Hautvegetation zustande kommt, die die Ausbildung einer Schwimmdecke begünstigt. Zuweilen haben die *Pichia*-Kahldecken eine mehr oder minder deutliche rötliche Farbe. Diese rührt von der Bildung eines roten Farbstoffes her.

Auf Trauben- oder Obstmost bilden *Pichia*-Arten schnell eine dicke, weiße, aschgraue, später gelbliche oder rötliche, grobgefaltete Haut. Die Faltung kommt dadurch zustande, daß einerseits durch die dauernde lebhaftes Sprossung, andererseits durch die myzelartige Verflechtung der Zellen Teile der Kahldecke über die Flüssigkeitsoberfläche geschoben werden. Wenn die Flüssigkeit zwischen den Falten abreißt, wird in sie Luft eingeschlossen. (Die Beobachtung solcher Falten mit Gaseinschlüssen gab wohl die Veranlassung zu der Meissnerschen Lufthüllentheorie (siehe Seite 87). Die von den Falten eingeschlossene Luft hat das Bestreben, Kugelform anzunehmen. Diese Luftkugeln sind umspannt mit einer feinen, verfilzten Hefedecke, die dank ihrer großen inneren Oberfläche wie ein Filtrierpapier große kapillare Kräfte entwickelt, so daß dazwischen Flüssigkeit festgehalten wird. Kapillare Kräfte sind es auch, welche bedingen, daß zwischen den an den Glaswänden haftenden Hefedecken 1—1,5 cm hoch über den Flüssigkeitsspiegel Flüssigkeit hochgesogen wird.

Das Gärungsvermögen ist an sich noch vorhanden, aber schwach. Nachweisbar ist es dadurch, daß man durch Schütteln der Kulturen Kahldecken zum Absinken bringt und so künstlich eine Bodensatzvegetation erzeugt. Letztere zeigt nach einigen Tagen, vor allem bei Erwärmung auf 30—38 ° C. mehr oder minder deutliche Kohlensäureentwicklung.

Die *Pichia*-Arten verleihen dem Most und Wein bei längerer Einwirkung einen üblen Geruch.

In systematischer Hinsicht hat man die Hauptgattung *Pichia* Hansen auf den Vorschlag Klöckers 1924 in 2 Untergattungen aufgeteilt, nämlich in die eigentliche Gattung *Pichia* und Untergattung *Zygopichia*. Erstere bildet die Sporen parthenogenetisch, letztere nach einer Zellkopulation. Diese Einteilung ist heute nicht mehr haltbar. Wenn eine Hefe erst nach einer Diploidisierung Sporen bildet, so ist dies ein Zeichen lediglich dafür, daß die Zellen vorher in haploider Phase vorlagen. Auch der Ausdruck „parthenogenetisch“ stammt noch aus einer Zeit, in der man von Diploidisierung oder Phasenwechsel noch nicht so viel wußte wie heute. Bei einer angeblich „parthenogenetisch“ Sporen bildenden Hefe ist entweder eine Kopulation nicht mehr nötig, weil sie schon diploid ist oder sie ist diploid, weil die Kopulation zweier haploider Zellen schon lange Zeit vor der Sporenbildung erfolgte.

Die Sporen der Gattung *Pichia* sind meist halbkugelig, aber auch rund, nierenförmig oder sogar eckig. Es werden je Askus 2–4 Sporen gebildet. Die Sporen keimen sehr schnell zu kleinen haploiden Zellen aus, woraus man leicht asporogene haploide Rassen isolieren kann. Stelling-Dekker führt in ihrem hefesystematischen Werk noch 7 *Pichia*-Arten auf, nachdem sie bereits 7 Arten die Existenzberechtigung abgesprochen hatte. Aber selbst die Zahl von 7 Arten ist bestimmt noch zu groß und wird bei weiterer strenger Untersuchung nach den modernen biologischen Gesichtspunkten verringert werden müssen.

Im Wein sind hauptsächlich 2 Arten anzutreffen.

1. *Pichia membranaefaciens* Hansen. Sporenbildung bei 30°, nicht so häufig wie bei nachfolgender Art. Gärungsvermögen sehr schwach, kaum nachweisbar. Sporen rund bis halbkugelig. Eine graue, gerunzelte Kahmdecke bildend.
2. *Pichia farinosa* (Lindner) Hansen. Sporenbildung tritt sehr häufig und leicht ein, meist 4 Sporen, manchmal sogar bis 6 je Askus. Eine weiße, mehlähnliche Kahmdecke bildend.

c) Die Gattung *Willia* Hansen (= *Hansenula* Sydow).

Diese Gattung bildet ebenfalls auf zuckerhaltigen Nährlösungen schnell eine weiße, matte Haut. Die abgesunkenen Zellen beginnen jedoch nach einiger Zeit deutlich bis lebhaft zu gären, wodurch sich die Kahmdecke in großen Blasen hochwölbt, schließlich sogar zerrissen wird. Bei 4–5 Vol. % hört jedoch die Alkoholbildung auf. Der Alkohol wird zusammen mit selbst-erzeugten flüchtigen Säuren verestert. Unter den Estern hebt sich besonders deutlich Essigsäureamylester ab. Die Sporen sind entweder halbkugelig, hut- oder zitronenförmig, glattwandig mit einer stark hervorspringenden Leiste. Manchmal tragen sie die Leiste median, so daß sie an den Planeten Saturnus erinnern. Biochemisch bemerkenswert ist, daß alle *Willia*-Arten sich fähig zur Nitrataassimilation erwiesen.

Stelling-Dekker führt noch 5 *Willia*-Arten auf, nachdem sie weiteren 4 die Existenzberechtigung als Art abgesprochen hatte.

Im Wein wurden bisher hauptsächlich 2 Arten angetroffen:

1. *Willia anomala* (Hansen) Sydow. Sporen 2–4 je Askus, hutförmig, ohne Leiste.
2. *Willia saturnus* (Klöcker) Sydow. Sporen 1–2 je Askus mit einer Leiste um die Mitte, wie der Planet Saturnus aussehend.

Wenn in der Flora von Spätlesen und Trockenbeerauslesen, welche durch ihre hohen Zuckergehalte langsam vergären, zuweilen *Willia*-Arten enthalten sind und ganz „dezent“ und fein nuanciert Fruchtester bilden, kann der betreffende Wein sogar an Wert gewinnen. Sowie aber der Estergehalt zu aufdringlich und zu hervorstechend ist, wird ein solcher Wein geringer bewertet oder sogar als fehlerhaft abgelehnt. Man sieht in diesem Falle, daß es ganz auf die Dosierung der Stoffwechselprodukte ankommt, ob eine Hefe in einem Fall in der Praxis als nützliche, im anderen Falle als schädliche Pflanze betrachtet wird.

Die Gattung Brettanomyces Kufferath u. Laer.

Die Gattung hat ihren Namen daher, weil sie bei der Nachgärung der typischen englischen (britischen) Biere eine für deren Geschmack und Aroma ausschlaggebende Rolle spielt. Der Schöpfer dieser Gattungsbezeichnung isolierte eine von ihm als „bruxellensis“ bezeichnete Art 1921 aus belgischem „lambic“ Bier. Der Holländer M. Th. Custers¹⁾ machte 1940 über diese Hefegattung seine Dissertationsarbeit. Dabei stellte sich heraus, daß die von Krumbholz²⁾ und Tauschanoff 1930 in Geisenheim aus Traubenmost französischer Herkunft isolierte und von ihnen als *Mycotorula intermedia* bezeichnete Hefe mit *Brettanomyces bruxellensis* identisch ist.

1943 wurden in Geisenheim ungefähr 20 Jahre alte Flaschen, welche nach dem E.K.-Verfahren sterilisierten Traubenmost enthielten, geöffnet. Die betreffenden Flaschen stammten aus der Zeit der allerersten Versuche dieser Art, welche noch unter der persönlichen Mitwirkung des Erfinders des E.K.-Filters, Dr. Schmitthenner, durchgeführt worden waren. Bei der Probe dieser alten Traubensüßmoste fielen einige Flaschen mit leichter Trübung und einem deutlichen Essigsäuregeschmack auf. Die mikroskopische Untersuchung dieser Süßmosttrübung ergab die Abwesenheit von Essigbakterien und die Anwesenheit einer Hefe mit einseitig oder beiderseitig zugespitzten Zellen und zum Teil sehr langen, schlauchförmigen Zellformen. Nach den morphologischen und biochemischen Merkmalen wurden diese Hefen als *Brettanomyces* identifiziert.

1945 trat am Botanischen Institut Geisenheim bei einem Sherrysierungsversuch eines Weines Essigstich auf. Die mikroskopische Kontrolle ergab wieder Abwesenheit von Bakterien und Anwesenheit einer Hefe, die wieder als zur Gattung *Brettanomyces* gehörig angesprochen werden mußte. Wieder fiel die Fähigkeit zur Essigsäure- und Fruchtesterbildung dieser Hefe auf.

Diese Vorfälle aus der Praxis zeigen, daß *Brettanomyces* zwar sehr selten im Most und Wein anzutreffen ist, daß aber mit der Anwesenheit dieser Hefegattung, vor allem in Süßmosten und in essigstichigen Weinen, gerechnet werden muß. Für die praktische Kellerwirtschaft ist die Erkenntnis von Bedeutung, daß Moste und Weine, auch ohne Bakterien, ohne aerobe Hefen, allein von einer anaerob wachsenden Hefe essigstichig werden können.

Dr. Ottorino Agostini hat 1946/47 auf meine Veranlassung *Brettanomyces*-Rassen eingehend studiert, 5 Stämme aus dem erwähnten Sherrysierungsversuch isoliert und diese zusammen mit 2 Stämmen aus dem gärungsphysiologischen Institut der landwirtschaftlichen Hochschule München.

¹⁾ Custers, M. T. J. Onderzoekingen over het gistgeslacht *Brettanomyces*, Thesis. Tech. Hoogeschool, Delft, 1940.

²⁾ Krumbholz, G und Tauschanoff, W. *Mycotorula intermedia* n. sp. ein Beitrag zur Kenntnis der Gärungserreger im Wein, Cbl. Bakter. usw., Abt. II, Bd. 88, S. 366—373, 1933.

Weihenstephan vergleichend untersucht. Seinen bisher unveröffentlichten Ergebnissen entnehme ich folgendes:

1. Der auffallende, außerordentlich starke Polymorphismus dieser Hefe muß als biologisches Phänomen betrachtet werden. Die Formen dieser Hefe sind durch dauernde Kopulationen zwischen großen und kleinen Zellen ständig im Fluß. Es finden dauernd Diploidisierungs-, Tetraploidierungs-, kurzum Polyploidisierungsvorgänge statt, welche von kleinen, einseitig zugespitzten, anscheinend haploiden Zellen, zu beiderseitig zugespitzten oder walzenförmigen, anscheinend diploiden, triploiden und tetraploiden und schließlich zu sehr langgestreckten hyphenförmigen, anscheinend polyploiden Formen führen. Letztere sprossen wieder kleine „Blastosporen“ in großer Menge ab, die anscheinend wieder haploid sind (siehe Abb. 37).
2. Die von Agostini untersuchten *Brettanomyces*-stämme zeigten alle noch Fähigkeit zur Sporenbildung, wenn auch eine offensichtliche Tendenz zur Rückbildung der Sporulationsfähigkeit festgestellt werden



Abb. 37. Die Hefegattung *Brettanomyces* ist durch Vielgestaltigkeit der vegetativen Zellen gekennzeichnet. Hier sind Polyploidisierungen durch Zygotenbildungen von 2—6 Zellen und rechts charakteristische Blastokonidien einer polyploiden langgestreckten Zelle zu sehen. Phot. Dr. O. Agostini.

mußte. Der von einer typischen Chondrioschisis, Chondriokinesis eingeleitete Vorgang wird nicht in jedem Askus zu Ende geführt. Es werden offensichtlich der Gruppierung und Verschmelzung der Chondriosomen nach 2—4 Sporen angelegt, aber wie bei der Gattung *Kloeckeraspora* nicht mehr alle 2 oder 4 Sporen bis zur vollen Reife gleichmäßig entwickelt, so daß oft je Askus nur 1 oder 3 Sporen mit verschiedenem Grade der Reife und Vollkommenheit anzutreffen sind.

3. Die reifen Sporen werden aus dem Askus durch einen transversalen Schlitz zusammen mit den unreifen oder mit den nicht zu Sporen zusammengetretenen Chondriosomen entlassen. Die von den Aeci entlassenen Chondriosomen fügen sich außerhalb der Zellen zu Ketten (Chondriokonten) oder Stäbchen zusammen und täuschen Bakterieninfektionen vor.

4. Die untersuchten *Brettanomyces*-Rassen zeigten in Traubenmost sehr unterschiedliches Gärungsvermögen und lieferten bis 8,7 Vol. % Alkohol und bis 2,4 g Essigsäure im Liter. Die einen Stämme neigten mehr, die anderen weniger zur Hautbildung. Die einen bildeten vor der Gärung, die langsam und schleppend verlief, nur Inseln, die anderen eine dünne, graue, mehlige Haut auf der Mostoberfläche. Die meisten Stämme entwickelten auf dem Traubenmost zuerst ein angenehmes, fruchtartiges Aroma, das später von einem Essiggeruch verdrängt wurde. Der Priorität wegen müssen die von Krumbholz und Tauschanoff sowie die von Agostini und dem Verfasser isolierten Stämme als *Brettanomyces bruxellensis* Kufferath et Laer bezeichnet werden.

Die sog. „Gärungsmonilien“.

Unter der Bezeichnung „Monilia“ werden in älteren gärungsphysiologischen Werken auch Hefen geführt, obwohl der Name *Monilia* aus nomenklatorischen Gründen schon längst unzulässig war. Bis in die neueste Zeit hinein wurde immer wieder die Unzulässigkeit der Bezeichnung *Monilia* bei Hefen ausführlich begründet, und trotzdem der Ausdruck *Monilia* immer wieder gebraucht. Die Holländerin Berkhout¹⁾ war die erste, welche 1923 Klarheit in die nomenklatorische Verworrenheit dieser Gattung gebracht hat. Seitdem hat man allgemein anerkannt, daß der Name *Monilia* nur für die Konidienform mehrerer *Sclerotinia*-Arten und für die Konidienform der Gattung *Neurospora* zu verwenden ist.

Den Sproßpilz, den man früher unter dem Namen *Monilia candida* führte, bezeichnet man heute nach Berkhout als *Candida vulgaris* oder nach Castellanni *Candida tropicalis*. Es besteht Verdacht, daß *Candida tropicalis* sehr nahe mit *Brettanomyces* verwandt ist oder sogar mit dieser Gattung identisch ist. Für die aus Wein von Osterwalder 1912 isolierte Gärungsmonilia (von Osterwalder damals als „*Monilia vini*“ bezeichnet) haben Diddens und Lodder bereits 1942 mit Recht die Vermutung ausgesprochen, daß sie *Brettanomyces*-Arten sehr nahe steht.

Candida tropicalis (= *Monilia candida* Hansen) bildet auf Most zunächst eine weiße Kahldecke, gärt aber, wenn auch langsam, und liefert bis zu 5 Vol. % Alkohol. Für *Candida variabilis* (Lindner) Berkhout sind die Nomenklaturfragen noch nicht restlos geklärt. Diddens und Lodder, die sich näher damit befaßt haben, sind der Ansicht, daß *Candida variabilis* nicht in der heutigen Gattung *Candida* verbleiben kann und wahrscheinlich mit *Sporotrichum Carangeani* Langeron identisch ist. Bis zur endgültigen Klärung soll dieser Sproßpilz noch mit dem Namen *Candida variabilis* geführt werden. Er zeichnet sich in morphologischer Hinsicht mit einer geradezu verwirrenden, unter den ganzen Sproßpilzen einzig dastehenden Formenfülle aus. (Lindner brachte in seiner „Mikroskopischen und biologischen Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben“ allein 2 volle Seiten Abbildungen der Zellformen.) Dieser Pilz, der nicht umsonst die Speziesbezeichnung „*variabilis*“ erhielt, zeigt in seinen Zellgestalten nach Lindner Anklänge an *Oidium lactis*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Mycoderma*, *Dematium pullulans* und sogar an die Gemmen von *Mucor racemosus*. *Candida variabilis* bildet 1–2 Vol. % Alkohol und gekröseartige Hautvegetation auf Most. In Wein vermag er nicht

¹⁾ Berkhout, Chr. M. De schimmelgeslachten *Monilia*, *Oidium*, *Oospora* en *Torula*. Diss. Utrecht, 1923.

zu wachsen und wird von gärungstüchtigeren Hefen leicht unterdrückt. Praktisch ist mit seinem Spontanauftreten nur in nichtgärenden oder in der Gärung stecken gebliebenen Mosten zu rechnen.

Die Torulahefen.

Diese Hefen gehen in der Kellerpraxis auch unter dem Namen „Schleimhefen“, weil sie zuweilen Moste und Jungweine (allerdings nur sehr säurearme) schleimig machen können. In systematischer Hinsicht stellen diese Hefen eine sehr schwierige Pilzgruppe dar, weil man von ihnen weder Sporen noch den ganzen Lebenskreislauf kennt. Es besteht berechtigter Verdacht, daß viele von ihnen nur eine Phase (Sproßkonidienphase) eines höheren Asko- oder sogar Basidiomyceten darstellen. In die verworrene Nomenklatur dieser Hefen hat man eine vorläufige Ordnung hereinzubringen versucht, indem man die rote bis gelbe Pigmente carotinoider Natur bildenden hefeartigen Organismen in die Familie der *Rhodotorulaceae* mit der einzigen Gattung *Rhodotorula* Harrison 1928 einreichte, während man für die gleichen Hefeformen, die aber keine Pigmente bilden, die Unterfamilie der *Torulopsidaceae* aufstellte. Diejenigen mit einem deutlichen Pseudomycel und Blastosporenapparat werden in der Familie der *Mycotoruloideae* vereinigt. Zu letzteren werden auch die in vorigem Kapitel behandelten Gattungen *Brettanomyces* und *Candida* gestellt. Das Gärvermögen dieser anaskosporogenen Hefen ist gering, am geringsten bei den *Rhodotorulaceae*, die in der Praxis „Rosahefen“ heißen. Die Zellgestalt

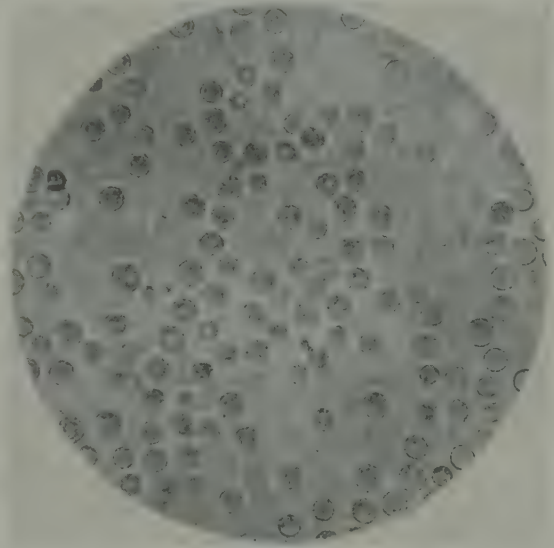


Abb. 38. Die für die meisten Torulahefen charakteristische kugelförmige Zellgestalt. Vergr. 360fach.

der Torulahefen ist meist kugelförmig und zuweilen auch oval, seltener langgestreckt. Die Zellgrößen sind meist sehr gering und bei den sog. „Zwergzellen“ oft nicht größer als diejenigen von Bakterien (Abb. 39). Sie bilden Fett als Reservestoff, das in Form einer Ölkugel bei älteren Zellen einen großen Teil des Zellinhalts einnimmt (Abb. 39). Wegen ihrer Fähigkeit zur Fettsynthese wurden einige, wie *Torulopsis pulcherrima*, bereits benutzt, um auf mikrobiologischem Wege Fett zu erzeugen. Die Überführung dieses Verfahrens in die Großtechnik scheiterte jedoch bisher immer an der Schwierigkeit, auf rationelle Art das Fett — das übrigens in seiner Zusammensetzung erheblichen Schwankungen unterworfen ist — aus den *Torulopsis*zellen quantitativ zu gewinnen.

Die „Schleimhefen“ sind in jedem Weinkeller zu finden, sie bilden oft zusammen mit Bakterien und anderen Pilzen stalagmitenartige, schleimig-knorpelige Gebilde an den feuchten Kellerwänden, wo Weindämpfe (Alkohol, flüchtige Säuren, Ester etc.) Gelegenheit haben, sich zu kondensieren.

Man findet auch in jedem spontan vergorenen Wein „Schleimhefen“, ohne daß sie dem Wein einen Schaden zufügen. Sie können nämlich nur Moste und in der Gärung frühzeitig steckengebliebene Weine befallen. Im freien, normalen Konkurrenzkampf erliegen sie den gärtüchtigen Sproßpilzen, weil sie von Alkoholkonzentrationen von 4 Vol. % aufwärts offensichtlich im Wachstum gehemmt werden. Auch gegen SO_2 sind sie empfindlicher als die echten Hefen.

In Süßmostereien dagegen ist ihre Anwesenheit wesentlich weniger harmlos als in Weinkellereien. Sie haben dort schon oft sehr unangenehme Infektionen hervorgerufen und dabei bewiesen, daß sie zwar empfindlich gegen Alkohol, aber erstaunlich resistent gegenüber höheren Temperaturen und Laugen sind. Es ist uns ein Fall in der Praxis begegnet, wo *Torulopsis*-arten sich in die Flaschenspülmaschine einer Süßmosterei regelrecht eingenistet hatten, obwohl diese ständig mit einer 50—60°C heißen 1 %igen P_3 -Lösung beschickt worden war. Erst als die Temperatur dieser Lauge

auf 70° und die P_3 -Konzentration verdoppelt worden war, konnte diese Schleimhefeinfektion beseitigt werden.

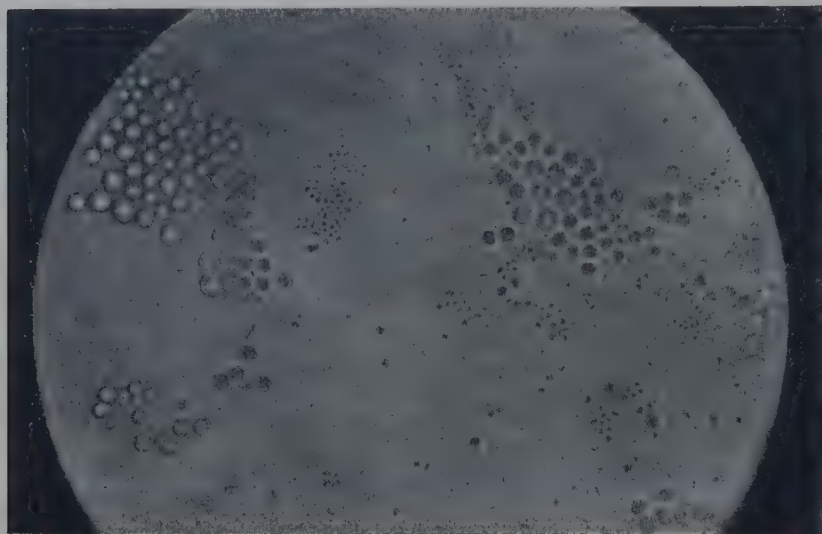


Abb. 39. Eine *Rhodotorula* aus Wein, in sog. „Zwergzellen“ zerfallend, links oben die typischen, großen Fettkugeln zeigend. Vergr. 400fach.

Eine Untersuchung auf Laugen-, Hitze- und Säureresistenz von L. Wienke¹⁾ 1940 ergab, daß die sog. „Schleimhefen“ in der Tat in dieser Hinsicht viel resistenter als echte Hefen sind und einen sehr weiten pH-Bereich vertragen, der von regelrechten Säuren von pH 2,5 bis pH 12 geht. Außerdem ergab sich, daß sie noch ganz geringfügige Mengen von flüchtigen organischen Verbindungen in Dampfform auszunutzen vermögen. Daraus erklärt sich ihr Vorkommen an Kellerwänden.

Eine erstaunliche Resistenz der *Torula*-hefen gegenüber Borsäure stellten 1936 Schnegg²⁾ und Weigand fest. Es zeigte sich, daß die in Apotheken käuflichen, für Desinfektionszwecke, Augen- und Wundenspülungen verwendeten etwa 3 %igen Borsäurelösungen mit Vertretern der Gattung *Rhodotorula* und auch mit „schwarzen Hefen“ infiziert waren. Die Untersuchungen der genannten Autoren zeigten, daß Laboratoriumskulturen dieser Hefearten

¹⁾ Wienke, L. Vergleichende Untersuchungen über Lauge-, Säure- und Hitzeresistenz von Weinhefen und sog. *Torulaceen*. Cbl. für Bakt., Parasitenk. und Infektionskrankheiten. Abt. II, Bd. 104, 1941.

²⁾ Schnegg, H. und Weigand, K. Borsäure-Studien. Ebenda, Bd. 95, S. 154—167, 1936.

und auch anderer Mikroorganismen schon bei stägiger Einwirkung von nur 1%igen Borsäurelösungen zugrunde gehen. Es tritt also in den Borwässern der Apotheken und Drogerien vielfach eine Gewöhnung und zugleich eine Selektion der resistentesten Schleimhefen ein.

Auch diese von Schnegg und Weigand mitgeteilten Beobachtungen beleuchten die Lebensfähigkeit und die Fähigkeit der Schleimhefen, mit den schwierigsten Lebensbedingungen fertig zu werden und sich sogar an sonst für sie giftige Medien zu gewöhnen.

B. Die Spaltpilze oder Bakterien.

Während man noch zu Pasteurs Zeiten die Anwesenheit von Bakterien in Weinen in jedem Falle als krankhaft und nachteilig betrachtete, trat um die Jahrhundertwende ein Umschwung ein, indem erkannt wurde, daß nicht immer Bakterien für den Wein schädlich, sondern sogar in bestimmten Fällen höchst nützlich, ja unentbehrlich sind.

Unsere Einstellung zu den Spaltpilzen des Weines ist seit dieser Zeit eine andere geworden. Wir wollen uns in diesem Abschnitt lediglich mit den Weinbakterien beschäftigen. Als solche bezeichnen wir nicht alle diejenigen Bakterien, die wir etwa aus Weinen isolieren können, sondern lediglich diejenigen, welche sich in Weinen entwickeln und leben können und dabei die Weine durch ihre Stoffwechseltätigkeit günstig oder ungünstig verändern.

Überblicken wir die Schar der echten Weinbakterien und berücksichtigen dabei, daß schon die Trauben durch Regenspritzer aufgeklaste Erdpartikel mitbringen und daß bei der Kelterung der Trauben der Most von der Luft her großen Infektionsmöglichkeiten ausgesetzt ist, so müssen wir uns eigentlich über die geringe Artenzahl der Weinbakterien wundern. Woher rührt dies?

Es sind 2 Faktoren, welche schuld sind, daß von der großen Anzahl der überall in der Natur verbreiteten und auch in den Most bzw. Wein gelangenden Bakterien nur einige wenige Arten im Wein zu leben vermögen, nämlich die Fruchtsäure und der Alkohol.

Der schwerwiegendste ist der Säurefaktor. Gegenüber Alkohol sind die Bakterien lange nicht so empfindlich, wie die Laien annehmen. Daher kommt der Faktor Alkohol in seiner selektiven Wirkung erst an zweiter Stelle.

Genau betrachtet, sind es wiederum nicht die Fruchtsäuren an sich, sondern ihre durch Dissoziation frei gewordenen Wasserstoffionen, mit anderen Worten, die Konzentration der freien Wasserstoffionen (pH), welche außerordentlich selektionierend auf die in den Wein durch Erd- und Luftinfektion gelangten Bakterien einwirkt.

Schon bei der Kelterung werden alle Bakterien ausgeschaltet, welche die im Trauben- oder Obstmost herrschende, relativ hohe Wasserstoffionenkonzentration bzw. das niedrige pH (2,5–4,0) nicht vertragen können. Es ist ein Charakteristikum für die Bakterien allgemein, daß ihr pH-Optimalbereich in der Nähe des Neutralpunktes und im alkalischen Bereich der pH-Skala liegt. Diese typische Eigenart kommt sogar noch bei den Weinbakterien selbst zum Ausdruck, indem sie sich in höheren pH-Bereichen, als sie in Most und Wein gegeben sind, offensichtlich schneller und üppiger entwickeln.

Beim Einsetzen der alkoholischen Gärung unterdrückt der in immer höheren Konzentrationen auftretende Alkohol alle diejenigen, für die diese Alkoholkonzentrationen schon Gift bedeuten.

Das sind die Gründe, weswegen sich verhältnismäßig wenig Bakterienarten im Wein entwickeln können. Ein Teil wird durch diese 2 Faktoren direkt getötet, ein Teil nicht getötet, aber an der Entwicklung gehemmt. So vermögen Sporen von Erdbakterien Jahre und jahrzehntelang sich im Wein am Leben zu erhalten. Ein Teil davon kann bereits dadurch zur Entwicklung gebracht werden, daß man die Säuren des Weines total neutralisiert und den Wein etwas alkalisch macht. Ein anderer Teil kann zum Leben erweckt werden, indem man sie in alkalisch gemachte Fleisch-extraktgelatine bringt.

Die hemmende und zum Teil sogar tötende Wirkung des Weines auf Bakterien bedingt auch seinen großen hygienischen Wert, der bereits im Altertum empirisch erkannt war und auch heute noch in heißen Ländern mit schlechten Trinkwasserverhältnissen praktisch genützt wird. Es ist nicht von ungefähr, daß dort der Wein im alltäglichen Leben der Bevölkerung eine viel größere Rolle spielt als in kühleren Ländern, weniger als Genußmittel wie als Trinkwasserdesinfektionsmittel. Seit altersher ist es dort üblich, Wasser oder Wein selten allein für sich, sondern beide gemischt zu trinken.

Über die bakterizide Wirkung des Weines liegen Arbeiten französischer Forscher vor. So berichteten Sabrazes¹⁾ und Marcandier 1907, daß Typhusbakterien in einem Weißwein nach 15—30 Minuten, in einem Champagner in weniger als 10 Minuten, in Rotwein erst nach 2 Stunden abgetötet waren. In mit Wasser 1 : 1 oder 1 : 3 verdünntem Weißwein blieben die Typhusbakterien 15 Minuten, in einem 1 : 1 verdünnten Rotwein 2—9 Stunden am Leben. Sie sahen im Säuregehalt der Weißweine den wichtigsten Faktor der bakteriziden Wirkung; denn der gleiche, mittels Soda neutralisierte Wein zeigte keinerlei bakterizide Wirkung mehr.

Der Behauptung der gleichen Autoren, daß alte Flaschenweine steril werden, muß allerdings widersprochen werden; denn ich selbst mußte mich überzeugen, daß ein 16 Jahre alter französischer Champagner noch keimfähige Bakteriensporen neben lebenden Schimmelpilzsporen enthielt.

Der hygienische Wert des Traubenweines darf nicht überschätzt und seine bakterizide Wirkung darf nicht verallgemeinert werden. Es kommt nicht allein sehr auf die Zusammensetzung der Weine, ihr pH und ihr rH an, sondern auch darauf, wieviel und welche Bakterien man dem Wein zugibt, ob vegetative Zellen oder Sporen.

Jedenfalls haben 1949 am Botanischen Institut in Geisenheim durchgeführte Untersuchungen mit verschiedenen Stämmen von *Bact. coli* ergeben, daß ein besonders resistenter Stamm in einem Rheingauer Weißwein (mit pH 3,12) 2½ Stunden und in 1 : 1 verdünntem Wein bis 5 Tage am Leben blieb.

1. Allgemeine Morphologie (= Gestaltkunde) der Weinbakterien.

Im Wein sind bisher nur 2 Grundformen von Bakteriengestalten gefunden worden, nämlich die Kugel- oder Kokkenform und die Stab- oder Bakterienform.

¹⁾ Sabrazes, J. et Marcandier, E. Action du vins sur le Bacille d'Eberth. Annales de l'Institut Pasteur. S. 312—320, Avril 1907.

Die Kokkenformen.

Die Bakterienzelle besteht in diesem Falle aus einer Kugel, deren Dimensionen so klein sein können, daß wir sie mit dem normalen Lichtmikroskop gerade noch sehen können. (Durchmesser $0.3 - 0.5 \mu$) bis zu Dimensionen von 1.5μ im Durchmesser (z. B. *Micrococcus cariococcus* Müller-Thurgau et Osterwalder).

Die Kokken können einzeln vorkommen, dann sprechen wir von Monokokken. Sie zerfallen bei der Teilung bald wieder in Einzelkugeln. Bleiben diese jedoch beisammen, so spricht man von Diplokokken (= Doppelkokken). Teilen sich die Kokken ständig nach einer Richtung und bleiben die Tochterzellen längere Zeit aneinander hängen, so entstehen Perlschnüre, die wir Streptokokken nennen. Teilen sich die Kokken nach 2 Richtungen des Raumes, so entstehen Vierergruppen (Tetraden, griech. tetra = 4) oder Pediokokken. Teilen sich die Kokken nach 3 Richtungen des Raumes und bilden so regelrechte kubische Pakete, so nennt man sie Sarcinen. Letztere Form ist bezeichnenderweise im Wein so gut wie nie anzutreffen, dagegen häufig in krankem Bier. In der Bierbrauerei ist Sarcineninfektion sehr gefürchtet.

Teilen sich die Kokken unregelmäßig in der Raumrichtung, so entstehen traubenförmige Verbände, die früher Staphylokokken genannt wurden.

Die Stäbchen- oder die klassische Bakterienform.

Die Zelle ist in diesem Falle zylindrisch, kurz oder langgestreckt. Im ersten Falle sprechen wir von Kurzstäbchen, im zweiten Falle von Langstäbchen. Die Stäbchen strecken sich beim Wachstum in die Länge, dann entsteht in der Mitte eine Teilungswand, und das Stäbchen wird in 2 gleiche Hälften gespalten, daher die Bezeichnung Spaltpilze.

Die Teilungsglieder können längere Zeit miteinander verbunden bleiben, dann entstehen mehr oder minder lange aus Einzelgliedern zusammengesetzte Ketten. Diese Ketten sind dann in ihrer ganzen Länge nicht mehr gerade, sondern gewunden, können sich miteinander verwirren, so daß ganze Fadengeflechte und verfilzte watteförmige Kolonien entstehen, die Pilzmyzel vortäuschen können. So ist ein Milchsäurebakterium, das in kalifornischen Weinen auftrat, deswegen von den Weinküfern dort „Cotton mold“ (= Baumwollpilz) getauft worden. Die Durchmesser der Stäbchen variieren.

Die sog. „Involutionsformen“ oder die „unverständlichen“ (involutus = unverständlich) Formen.

Neben diesen normalen Grundformen findet man zuweilen auch ungewöhnliche Formen. Diese Formen treten gern im Alter auf und können durch allzu große Anhäufung eigener Stoffwechselprodukte entstehen. So beobachtet man in alten Essigbakterienkulturen merkwürdig große und unförmig aufgeblähte Stäbchen. Als Alterserscheinung kann auch die Spirillenform auftreten, bei der ein Stäbchen korkzieherförmig gewunden erscheint. In diesen Fällen kann man die Involutionsformen als Degenerationsformen auffassen. Für Degenerationsformen wurden früher auch Bakterienformen gehalten, die in Wirklichkeit Regenerationsformen sind.

Wir nehmen heute an, daß sich Bakterien aus der Chondriosomenform der symbiontischen Phase in selbständige, d. h. in die Form des freien Eigenlebens regenerieren können. Wir können im jungen Wein stets solche Regenerationsformen finden und allmählich alle Übergänge, von Gerinnselformen über rohe, rauhe „Beinahestäbchen“ bis zu fertigen glatthäutigen Stäbchen beobachten. Früher hat man diese Regenerationsformen einfach als Eiweiß-Gerbstoffgerinnsel bezeichnet. Gewiß gibt es auch solche leblose Gerinnsel im Wein, und es bedarf oft erst eines Bebrütungsversuches im Hängetropfen, um beide Dinge zu unterscheiden.

Ob ein Gerinnsel lebend oder nicht lebend ist, läßt sich oft nur dadurch unterscheiden, daß man es in einen Fleischextraktgelatinetropfen von pH 7—9 überträgt und in der feuchten Kammer einige Tage beobachtet. Handelt es sich um eine lebende, gerinnselartige Regenerationsform, so entstehen daraus entweder Bakterien oder es wächst in Gerinnselform weiter. Verändert sich die Gerinnselform in diesem Nährboden nicht, dann war es eine tote Eiweißausflockung.

Die Bakterien sind bisher zu sehr rein statisch betrachtet worden. Indessen sind die Formen einer Bakterienart während ihres Lebens nie konstant, d. h. gleichbleibend, sondern durchlaufen einen Gestaltzyklus. Die monomorphistische Auffassung der Bakterien gehört der Geschichte an. Heute werden die Bakterien nicht mehr von statischen, sondern von biologischen Gesichtspunkten aus betrachtet, die monomorphistische Betrachtungsweise wird von der biologischen, die zwangsweise eine polymorphistische (vielgestaltige) ist, abgelöst. Das heißt also, daß uns ein und dieselbe Bakterienart während ihres Lebenskreislaufes (Life cycle der englischsprachigen Bakteriologen) in verschiedenen Gestalten entgegentreten kann.

Eine solche Gestalt ist die bewegliche, begeißelte oder Schwärmergestalt. In dieser Lebensphase sendet die Zelle zähflüssiges Protoplasma in Fadenform durch die Zellwand hindurch nach außen, das uns als Geißel erscheint. Mit Hilfe dieser lebhaft schwingenden Protoplasmafäden vermag der primitive Einzeller seinen Standort zu wechseln, günstigere und überhaupt die jeweils günstigsten Gebiete des flüssigen Milieus aufzusuchen.

Im Wein finden wir nie Bakterien in Schwärmerform, dagegen schon eher im Most, solange er noch nicht in Gärung geraten ist. Der Alkohol scheint für die Aussendung des Protoplasmas außerhalb der Zelle in Geißelform ungünstig zu sein. Ebenso finden wir Weinbakterien im Wein nie sporulierend, d. h. Dauerformen bildend. Daher sagt man, alle Weinbakterien wären keine Sporenbildner. Auch auf den üblichen Laboratoriumsnährböden bilden die Weinbakterien keine Sporen. Das berechtigt an sich noch nicht dazu, die Weinbakterien für asporogene Bakterien zu erklären.

Wir kennen wahrscheinlich noch nicht ihre Bedingungen zur Sporenbildung; denn es ist von biologischen Gesichtspunkten aus betrachtet sehr unwahrscheinlich, daß die Natur Lebewesen nicht mit der Fähigkeit, Dauerorgane zum Überwinden ungünstiger Daseinsbedingungen zu bilden, ausstattet.

Während normalerweise der Protoplast des Bakteriums nach außen lediglich durch eine aus Zellulose, Hemizellulose oder pektinartige Substanz bestehende Membran abgeschlossen ist, besitzen verschiedene Wein- und

Essigbakterien darüber hinaus noch eine mehr oder minder dicke Schleimschicht. Dadurch verkleben die einzelnen Zellen miteinander, und es kommt zur Ausbildung von sog. Zoogloeen. (Ausdruck aus früherer Zeit stammend, in der man Bakterien noch nicht kannte, von Zoon = Tier und gloia = Schleim, also „Tierschleim“.) Die von den Praktikern als „Essigmutter“ bezeichnete Decke von *Bacterium xylinum* ist eine flächenartig ausgebildete Zoogloee. In säurearmen Obstweinen bilden manche Milchsäurebakterien haselnuß- bis hühnereigroße Zoogloeen, und im Extremfall kann ein ganzer Faßinhalt zu einer riesengroßen Zoogloee, einem gallertartigen Aggregat, werden. Zwischen diesem Extremfall und dem absolut schleimlosen Zustand gibt es in der Konsistenz dieser Bakterien Schleime alle Übergänge. Man kann z. B. die Krankheit des Zäh- oder Lindwerdens oder des Fadenziehens bereits als eine Zoogloeebildung dünnerer Konsistenz auffassen; denn automatisch enthält ein „zäher“ Wein eine ungeheure Menge von Bakterien, die die eigentliche Ursache des Fadenziehens sind.

Auch an den gallertartigen, an feuchten Weinkellerwänden vorkommenden Gebilden sind schleimbildende Bakterien beteiligt, hauptsächlich *Streptococcus mesenteroides*, das „Froschlaichbakterium“, das seinen Namen von der Bildung froschlaichartiger Gallertmassen erhalten hat. Während man früher die Bakterien Schleimstoffe für eiweißartige, jedenfalls stickstoffhaltige Stoffe hielt, konnte in neuerer Zeit nachgewiesen werden, daß sie Polymerisationsprodukte des Zuckers, wie Dextran (aus Dextrose), Laevulan (aus Fruchtzucker-Laevulose) oder Galaktan (aus Galaktose) sind. (Vgl. H. Lüthi: Schweiz. Zeitschr. für Obst- und Weinbau 1950, S. 149 und 165.)

Schleimstoffe werden vorübergehend auch bei dem sog. „biologischen Säureabbau“ in sauren Jahrgängen im Traubenwein von den Säureabbau-bakterien gebildet. In diesem Stadium hat der Wein sichtlich eine höhere Viskosität, beim Ausgießen entstehen kurze Zeit seifenblasenähnliche Gebilde. Nach einiger Zeit verschwindet dieser Zustand meist von selber wieder.

Die Frage der Sporenbildung der Weinbakterien.

Mit Ausnahme von Ernst Kramer¹⁾ (1890) sind von allen übrigen Weinbakteriologen bisher nur nichtsporulierende Weinbakterien beschrieben worden. E. Kramer dagegen hatte aus kroatischen Weinen mehrere Bazillen, also Bakterien, mit endogener Sporenbildung isoliert. Die Tatsache der Isolierung allein würde nicht genügen, um solche Bakterien als echte Weinbakterien anzusprechen. Zwar ist es E. Kramer damals gelungen, diese Bakterien in mit Pepton versetztem Wein zu kultivieren. Aber seine Versuche ergaben, daß sie in Anwesenheit von Eiweißstoffen Apfel-, Weinsäure und Glyzerin zersetzen konnten, ebenso Ammoniumtartrate in Bernstein- und Ameisensäure.

Man hat den damaligen Arbeiten über Weinbakterien von E. Kramer unrecht getan, indem man sie nicht beachtete. Kramer hat damals aus krankgewordenen kroatischen Weinen Sporenbildner vom *Clostridium*- und *Plektridium*typ isoliert und kultiviert.

Jedenfalls müssen wir uns hüten, zu glauben, daß alle Weinbakterien Nichtsporenbildner sein müßten. Der eindeutige Nachweis der Sporenbildung bei asporogen gehaltenen Hefearten, wie *Kloeckeraspora* und *Myco-*

¹⁾ Kramer, Ernst. Bakteriologische Untersuchungen über das „Um-schlagen“ des Weines. Landw. Versuchs-Stationen. Bd. 37, S. 325–346, 1890.

derma muß uns eine Warnung sein. Es ist richtiger, einstweilen zu sagen, daß bisher bei der Mehrzahl noch keine Sporenbildung gefunden wurde.

Für Apfelmost kann bereits jetzt nicht mehr die Behauptung des ausschließlichen Vorkommens von Nichtsporenbildnern aufrecht erhalten werden; denn 1941 erhielt ich aus 2 verschiedenen Gegenden Deutschlands Apfelsüßmoste, gekeltert aus säurearmen Äpfeln der Normandie und Bretagne, welche mit einem nach dem *Clostridium*typ sporulierenden Bazillus in derart starkem Maße infiziert waren, daß die betreffenden Apfelmoste geradezu wie eine Massen- und Reinkultur dieses Bazillus aussahen. Die Moste waren gleichzeitig zäh (oder lind) geworden.

Die Frage nach der Herkunft der Weinbakterien.

Man hat bisher angenommen, daß alle im Wein vorkommenden Bakterien, genau wie die Hefen durch Luftinfektion und durch die Erdpartikel, welche an den Trauben haften, in den Most und so in den Wein gelangen.

Das gleiche hat man für die Milchsäurebakterien des Obstes und Gemüses und des Silofutters angenommen. Nun habe ich aber seit 1939¹⁾ wiederholt beweisen können, daß man bisher einen Bakterienstandort übersehen hat, nämlich die pflanzliche Zelle. Nicht allein erkrankte Zellen oder solche von Tumoren, wie diejenigen der Wurzelknöllchen der Leguminosen, beherbergen Bakterien, sondern schon die normalen, physiologisch gesunden Zellen der höheren Pflanzen. Diese Befunde sind zwar von der Mehrzahl der Bakteriologen energisch befehdet worden, aber verschiedene, vorher sehr skeptisch gewesene Forscher mußten meine diesbezüglichen Angaben bestätigen (so Hennig-Villforth²⁾ 1942, Stührk 1943³⁾, Poschenrieder⁴⁾ 1944, Burcik⁵⁾ 1949).

Es ist eine feststehende Tatsache, daß man unter Einhaltung aller erdenklichen aseptischen Vorsichtsmaßregeln aus lebendem Gewebe aller möglichen Pflanzenorgane, seien es Wurzeln, Sprosse, Früchte oder Samen, Bakterien herauszüchten kann.

Wie steht es nun mit dem Gewebe von Früchten, aus denen wir Moste oder Weine herstellen, wie Trauben, Äpfel, Stachelbeeren usw.?

Auch aus diesen kann man nach folgenden Methoden Bakterien herauskultivieren:

¹⁾ Schanderl, H. Die Bakteriensymbiose der Leguminosen und Nichtleguminosen. Die Gartenbauwissenschaft Bd. 13, S. 406—440, 1939. — Neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der Konservenbakteriologie. Ztschr. Obst- u. Gemüseverwertungsindustrie, Ausg. A., 26. Jahrg., S. 771, 1939.

²⁾ Hennig, K. u. Villforth, F. Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Bakteriensymbiose in höheren Pflanzen und ihre Beeinflussung durch „Leitelemente“. Biochem. Zeitschr., Bd. 305, S. 299—309, 1940.

³⁾ Stührk, A. Neuere Erkenntnisse über die Ursache der Bombagen und Säuerung in Gemüsekonserven. Die Obst- und Gemüseverwertungsindustrie, Ausg. A., H. 42, 1941.

⁴⁾ Poschenrieder, H. mitgeteilt in Schanderl, H. „Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanze auf neuer Grundlage.“ S. 71/72, Ulmer, Ludwigsburg, 1947.

⁵⁾ Burcik, E. Kritik der Symbiosetheorie von H. Schanderl nach unseren neuesten Untersuchungen. Archiv f. Mikrobiologie, Bd. 14, Heft 2, März 1949.

1. Durch aseptische Operation von Gewebestücken aus Beeren und Früchten und Übertragung derselben in eiweißreiche flüssige Nährböden, die ein um so höheres pH aufweisen müssen, je mehr organische Säuren die Gewebestücke aufweisen.
2. Durch aseptisches Herauspräparieren von Samen aus Früchten, wie Äpfel, Birnen, Orangen, Zitronen, Übertragung derselben in antiseptische Bäder (von Bromwasser, H_2O_2 -Lösung, Kalziumhypochlorit usw.). Dort Herausschälen von Keimblättern oder ganzer Embryonen und Übertragung derselben in geeignete Nährlösungen mit einem sterilen Skalpell, einige Male durchgeschnitten, um Zellen anzuschneiden und Zellinhalt freizulegen.
3. Durch Einspritzen auf Sterilität geprüfter alkalischer Plasmolytika, wie 10% Kaliumbikarbonatlösung mittels strengstens sterilisierter Injektionsspritzen und Injektionsnadeln. Dort, wo sich das alkalische Plasmolytikum in das Gewebe ergoß, eine Plasmolyse auslöst und eine Verschiebung des pH im austretenden Zellsaft bewirkt, tritt bei Bebrütung der Beeren oder Früchte bei 25–32° innerhalb 3–4 Tagen ein Bakterienherd auf. Man bekommt auf diese Weise dieselben Bakterien wie nach Methode 1 und 2. Aus Traubenbeeren gewinnt man auf diese Weise die gleichen Bakterienformen, wie man sie in erkrankten, zu säurearmen Obst- und Traubenweinen antrifft.
4. Durch Einführung einiger steriler Kaliumbikarbonatkristalle in Schnitte, die man mit glühend gemachten Messern oder Skalpellen, an Früchten wie Äpfeln, Birnen, Pflaumen, Bananen an Stellen anbringt, die vorher durch Äther oder Ankohlen äußerlich steril gemacht worden waren. Die Wunde wird mit sterilisierter Vaseline wieder verschlossen. In der Umgebung der Kristalle findet eine Plasmolysierung der Zellen und gleichzeitig eine Bindung der Fruchtsäuren statt. Im Laufe von 5 bis 10 Tagen verwandelt sich der Plasmolyseherd in einen Bakterienherd. Damit ist der Beweis erbracht, daß Most- und Weinbakterien nicht allein durch Außeninfektionen in den Most und Wein gelangen, sondern in viel höherem Maße aus den Zellen der Früchte selbst.

Die Tatsache, daß man auf die von mir beschriebene Weise Bakterien aus Pflanzenkörpern kultivieren kann, wird bereits nicht mehr kategorisch abgelehnt, sondern von ehemaligen Gegnern (siehe Burcik 1949) zugegeben.

Bestritten wird lediglich zur Zeit noch meine Behauptung, daß sich die Bakterien aus den Zellen regenerieren, daß es sich um ein Auflösen einer im Innern der Zelle realisierten Symbiose handle.

In unserem Zusammenhang ist letztere Frage von sekundärer Bedeutung. Für die praktische Weinmikrobiologie ist es zunächst gleichgültig, ob aus den Gewebezellen der zu Most oder Wein verarbeiteten Früchte symbiontische oder nichtsymbiontische Bakterien entstehen. Wichtig ist, daß sie daraus entstehen können; denn ob sie entstehen, in welchem Maße und in welchem Tempo, hängt einzig und allein von den Faktoren Temperatur und Wasserstoffionenkonzentration ab.

Jetzt verstehen wir auch, warum seit altersher für die Weinbereitung saure Trauben- und Obstsorten bevorzugt werden, warum aus säurearmen

Trauben- und Obstsorten so leicht bakterienkrank, ja ungenießbare Weine entstehen.

Je säureärmer und eiweißreicher ein Gärgut ist, bzw. je höher die pH-Zahl eines Pflanzensaftes, um so schneller und intensiver setzen die Regenerationsvorgänge ein, bei denen aus Plasmaorganen, Chondriosomen oder Mitochondrien genannt, Bakterien werden.

Die hohe Konzentration von dissoziierenden organischen Säuren (Wein-, Äpfel- und Gerbsäure) der Weintrauben (im Gegensatz zu den Eß- oder Tafeltrauben) bremsen die Regenerationsvorgänge so stark ab, daß sie entweder überhaupt nicht eintreten oder erst nach so langer Zeit, daß der Mensch Zeit hat, technologisch dazwischenzugreifen, oder schließlich in einer Form, daß sie dem Wein sogar nützlich sind (biologischer Säureabbau).

Jetzt verstehen wir auch, warum immer und überall sich bei Einsäuerung von Pflanzenteilen, sei es Sauerkraut, Salzbohnen oder Silagefutter, sich nahezu eine gleichartige Bakterienflora einstellt. Die Promptheit des Einstellens einer Milchsäurebakterienflora wäre nicht möglich, wenn die Bakterien lediglich durch Außeninfektion in diese Gäransätze gelangten.

Das gleiche trifft für die Milchsäurebakterien der Obst- und Traubenweine zu. Gelangten diese lediglich durch Außeninfektion in die Moste bzw. Weine, so könnte nie und nimmer sich der sog. „biologische Säureabbau“ so prompt und regelmäßig (gewisse Umstände ausgenommen) einstellen.

Warum finden wir nicht gleich in den ersten Tagen und Wochen Bakterien in größerer Menge im Wein? Gewiß ist das Substrat durch seine höhere Konzentration freier Wasserstoffionen günstiger für Sproß- als für Spaltpilze. Aber am späteren, oft monatelang späteren Erscheinen einer Bakterienflora ist gewiß auch der Umstand schuld, daß sich die Bakterien erst aus der vorhergegangenen symbiontischen Chondriosomenphase in die neue Phase selbständigen Lebens umstellen, mit anderen Worten regenerieren müssen.

Diese neuen Erkenntnisse klären manche bisher unverständlich oder unklar gewesenen Vorgänge im Werdegang des Weines schlechthin auf. Wir finden zu Beginn des sog. biologischen Säureabbaus häufig in den Weinen Übergangs- oder Regenerationsformen. Es ist oft schon eine deutliche Kohlensäureentwicklung vorhanden, und wir finden erst überraschend wenig „klassische“ Bakterienformen, sondern noch überwiegend Übergangsfiguren von der Form eines amorphen Gerinnsels, chinesischer Schriftzeichen oder noch ganz roh geformter Kugeln oder Stäbchen. Bereits in diesem Zustand beginnen die Säureabbau Bakterien mit biochemischen Umsetzungen.

Der sog. „biologische Säureabbau“¹⁾

Der wichtigste bakteriologische Vorgang im Traubenwein nördlicher Weinbaugebiete ist der sog. „biologische Säureabbau“. Ohne ihn wäre in

¹⁾ Die gesamte bis 1913 erschienene Literatur (41 Einzelarbeiten) über den Säureabbau des Weines ist zusammengestellt in Schätzlein, Chr.: Über den Säurerückgang des Weines und seine Bedeutung für die Praxis. Ztschr. „Der Weinbau der Rheinpfalz“, Neustadt a. d. Hdt., Jahrg. 1913. — Neueres Schrifttum: Rippel K. Neue Ergebnisse zur Frage des bakteriellen Säureabbaus im Wein. Der Deutsche Weinbau, Mainz/Rh., 22. Jahrg., S. 51—52, 1943. — Der bakterielle Abbau der Apfelsäure im Wein als Folge biologisch aktiver Wirkstoffe (Biokatalysatoren) in den Weinbeeren. Bericht d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 60,

Deutschland in vielen Jahren der Weinbau unrentabel, weil in der Mehrzahl der Jahre der Traubenmost bei uns mit soviel Säure gesegnet ist, daß ein Wein mit dem gleichen Säuregehalt wie der Most nicht trinkbar wäre.

Es ist ein Segen, daß die Natur beim Werden und Ausbau des Weines von sich aus dieses Zuviel an Säure korrigiert. Der kundige Käufer kann diesen natürlichen Vorgang je nach dem Jahrgang fördern oder bremsen. Durch den natürlichen, bakteriellen Säureabbau überwiegen bei uns trotz der geographischen Lage, nahe an der Nordgrenze des Weinbaues unserer Halbkugel, die Jahre, in denen ein „selbständiger“ Wein wächst und die Jahre sind in der Minderzahl, in denen eine künstliche Säurereduktion durch Zuckerwasserzusatz oder Entsäuerung notwendig ist.

In technologischer Hinsicht ist der Vorgang der Säuregärung in den nördlichen Weinbaugebieten ebenso wichtig wie die alkoholische Gärung.

In biologischer Hinsicht ist vor allem bemerkenswert, daß zwischen den Hefen, welche die alkoholische Gärung durchführen, und den Bakterien, welche den biologischen Säureabbau vollziehen, ein Metabioseverhältnis besteht. Unter Metabiose versteht man ein Lebensabhängigkeitsverhältnis „nacheinander“ (meta, griech. = nach, nachher). Die Hefen müssen vorausgehen und erst nach ihnen vermögen die Bakterien zu leben und zu wirken. Die Hefen schaffen erst mit noch unbekannten Stoffwechselprodukten (wahrscheinlich Eiweißabbauprodukten und Hefevitaminen bzw. Wirkstoffen) erst die ernährungsphysiologischen Voraussetzungen für die bedeutend anspruchsvolleren Bakterien.

Die Säureabbaubakterien des Weines gehören biochemisch betrachtet in die Gruppe der Milchsäurebakterien. Letztere, vor allem diejenigen der Milch, erwiesen sich allgemein als recht anspruchsvoll, indem sie neben gewissen Aminosäuren, wie Cystein, Methionin, Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Tryptophan, Asparaginsäure und Glutaminsäure, den Wachstumsstoff Biotin und an Vitaminen Aneurin, Lactoflavin, Adermin, Nikotinsäure, Panthotensäure und para-Aminobenzoesäure (= Vitamin H) benötigen.

Wieweit nun die Milchsäurebakterien des Weines mit den Milchsäurebakterien der Milch in ihren Vitamin- und Aminosäureansprüchen übereinstimmen oder abweichen, müssen erst zukünftige Untersuchungen (die nirgends so schwierig als gerade bei Weinbakterien sind) zeigen.

Das Metabioseverhältnis zwischen Hefen und Säureabbaubakterien hat bereits der erste erfolgreiche Bearbeiter dieser schwierigen Bakteriengruppe, nämlich Alfred Koch 1897 betont. Es gelang ihm, die typischen Säureabbaubakterien nur dann in Most oder Wein zu kultivieren, wenn er vorher darin Hefe kultivierte und sie mitsamt der Hefe durch Kochen sterilisierte. Alfred Koch konstatierte als erste hervorstechende Eigenschaft dieser Bakterien ihre großen Ansprüche in bezug auf Stickstoffernährung. Dabei verwies er auf eine Mitteilung Müller-Thurgaus auf dem Weinbaukongreß in Worms 1890, wo dieser bereits auf die auffallende Tatsache aufmerksam machte, daß „fette“ Weine immer mehr Bakterien aufweisen als magere Weine. Weiterhin wies A. Koch bereits 1900 darauf hin, daß bei seinen Studien

S. 108—117, 1942. — Nochmals zur Frage des bakteriellen Säureabbaues im Wein. Deutsche Weinzeitung Mainz/Rh., Nr. 67/70, 1943. — Der biologische Säureabbau im Wein. Archiv f. Mikrobiologie, Bd. 14, S. 509—530, 1949. — Schanderl, H. Über den bakteriellen Säureabbau im Wein. Deutsche Weinzeitung Mainz/Rh., Nr. 43—46, 1943.

Weine von stark mit Stickstoff gedüngten Weinbergen erheblich mehr Säure abbauten als Weine von daneben liegenden ungedüngten Lagen.

Der nächste Bearbeiter der Säureabbau Bakterien, W. Seifert, machte ebenfalls bei seinen Arbeiten die Erfahrung, daß sein *Micrococcus malolacticus* bei gleichzeitiger Anwesenheit von ruhender oder toter Hefe die Apfelsäure energischer angriff als in Kulturen für sich allein ohne Hefe.

Damit hängt auch die alte Küfererfahrung zusammen, daß Aufrühren der Hefe oder später Abstich den Säureabbau fördert, worüber Halenke, Omeis und Krug in den Jahren 1908—1911 umfangreiche, durch zahlreiche chemische Analysen gestützte Untersuchungen durchführten und die Küfererfahrung wissenschaftlich bestätigten.

Alle bis heute vorliegenden praktischen und wissenschaftlichen Erfahrungen mit den Säureabbau Bakterien der Traubenweine weisen auf ein ausgesprochenes Metabioseverhältnis zwischen Hefen und diesen Bakterien hin, das sich biochemisch nur so deuten läßt, daß die Säureabbau Bakterien nicht mehr sämtliche lebenswichtigen Stoffe selbst synthetisieren können, sondern solche von der Hefe direkt oder indirekt beziehen.

Auf eine weitere wichtige Tatsache machten 1910 Paul Kulisch¹⁾ und 1914/15 Baragiola²⁾ und Godet aufmerksam: „Je saurer der Jahrgang, desto stärker der durchschnittliche Säurerückgang“. Der Traubenmost saurer Jahrgänge ist nicht allein durch geringeren Zuckergehalt und hohen Gesamtsäuregehalt, sondern auch durch hohen Gesamtstickstoffgehalt ausgezeichnet. Umgekehrt sind reife Jahrgänge durch geringen Gehalt an Gesamtsäure und geringeren Gehalt an Gesamtstickstoff ausgezeichnet.

Über diese bakteriologisch so bedeutsame Tatsache besitzen wir ausgezeichnete analytische Belege durch die Schweizer Baragiola und Godet, welche den Gesamt- und Eiweißstickstoff der zwei kontrastreichen Weinjahrgänge 1911 und 1912 untersuchten. 1911 war bekanntlich ein sehr großer Jahrgang und 1912 ein sehr geringer. Sie fanden

A. Gesamtstickstoff in mg/l

	Müller-Thurgau	Gutedel	Veltliner	Burgunder	Räuschling
1911	310	320	400	250	—
1912	420	560	520	560	830

B. Davon Eiweiß-Stickstoff in mg/l

1911	290	310	370	240	—
1912	390	470	450	530	650

¹⁾ Kulisch, P. Der spontane Säurerückgang im Wein in seiner Bedeutung für die durch das neue Weingesetz gegebenen Verhältnisse. Mittlg. des Deutschen Weinbau-Vereins, **1910**.

²⁾ Baragiola, W. I. und Godet, Chr. Beitrag zur Kenntnis schweizerischer Weine. Schweiz. Weinzeitung, **1914**. — Die Bestimmung des Ammoniums im Weine und ihre Bedeutung. Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, Bd. 30, S. 169—216, **1915**.

Es ist ein großer Glück, daß unsere Traubenmoste in sauren Jahren mehr Stickstoffverbindungen enthalten und so den Säureabbau Bakterien in dieser Hinsicht bessere Ernährungsbedingungen bieten.

Der Stickstoff-Gehalt des Mostes und des zukünftigen Weines ist nicht allein von Sorte zu Sorte und jahrgangsmäßig verschieden, sondern hängt auch weitgehend von der Stickstoff-Ernährung der Reben im Weinberg ab. Es ist eine allbekannte Tatsache, daß die von gut gemisteten oder sonst gut mit Stickstoff gedüngten Weinbergsanlagen stammenden Weine einen schnelleren und intensiveren Säureabbau durchmachen¹⁾. In solchen Weinen kann der Säureabbau leicht über das erwünschte Maß hinausgehen und sich zu einem regelrechten „Milchsäurestich“ entwickeln. Die „Gör“ solcher Weine ist „unrein“ und erinnert mehr oder weniger deutlich an Sauerkraut, Salzgurken etc. Dies kommt daher, daß bei starkem Säureabbau nicht allein Apfelsäure, sondern auch organische Stickstoffverbindungen zertrümmert werden. In den Gär gasen erscheinen sodann in stärkerem Maße NH_3 ²⁾, H_2S , H_2 und andere flüchtige, unangenehm riechende Verbindungen.

Das Auftreten von NH_3 , das schon 1900 *Manceau* beim Säureabbau feststellte, hat weiterhin eine Verminderung des Säuregehaltes durch Neutralisation von Säuren und Bildung gelöst bleibender Ammoniumsalze zur Folge. Durch die Verminderung freier Säuren bzw. der Konzentration freier Wasserstoffionen schaffen sich die Bakterien immer bessere Daseinsbedingungen. Während in der ersten Entwicklungsphase die freien Wasserstoffionen hemmten, kommt bei zunehmender Entwicklung von NH_3 dieser Bremsblock in Fortfall. Die Folge ist eine ungezügelter Entwicklung, eine zu starke Säureminderung — der Säureabbau hat sich zu einer regelrechten Bakterienkrankheit für den Wein entwickelt. Der Säureabbau muß also mit dem Vorzeichen \pm versehen werden, er kann sich positiv und negativ, vom Standpunkt des Weinfachmannes aus betrachtet, abwickeln. Da man von Anfang an die Intensität des Säureabbaues nicht voraussehen kann, ist vom bakteriologischen Gesichtspunkt aus die Mostentsäuerung in sauren Jahrgängen zu verwerfen. Es sind uns schon Fälle bekannt geworden, in denen eine voreilige Mostentsäuerung eine so starke Entwicklung von Säureabbau Bakterien nach sich zog, daß die Weine wieder mit säurereicheren verschnitten werden mußten.

Man sollte aus diesen Gründen mit einer Entsäuerung mittels kohlensaurem Kalk stets warten, bis die Weinsteinausscheidung und der natürliche Säureabbau vorbei ist, also keine Most-, sondern eine Weinentsäuerung vornehmen.

¹⁾ P. Kulisch hat 1900 (Weinbaukongreß in Colmar) über Stickstoff-Untersuchungen von Mosten und Weinen aus salpetergedüngten Weinbergen berichtet. Der Säuregehalt der Moste war im Most von stickstoffgedüngten Reben um 1,4—1,5% niedriger. Der Säureabbau betrug im Wein aus der ungedüngten Kontrollanlage 1,75‰ aus der gedüngten Anlage 3,6‰.

²⁾ Baragiola und Godet weisen darauf hin, daß der biologische Säureabbau in den meisten Fällen, jedoch nicht immer, von einer Vermehrung des Ammoniumstickstoffs auf Kosten des Eiweißstickstoffs begleitet ist. „Je kräftiger der Säureabbau, um so stärker die Neubildung von Ammonium“. Diese Feststellung von Baragiola und Godet möchte ich Karl Rippel entgegenhalten, der in seiner jüngsten Veröffentlichung (1949) wiederum meine 1943 gegebene Erklärung, daß die Säureabbau Bakterien Kalorien aus dem Abbau von Eiweißstoffen gewinnen könnten, für „unwahrscheinlich“ hinstellt. Er meint, „daß der Säureabbau ja dann als Fäulnisprozeß, nicht aber als Gärung zu bezeichnen wäre“.

Bei der Most- und Weinentsäuerung mittels kohlen-saurem Kalk (CaCO_3) findet nicht allein eine Verminderung der Titrationssäure, sondern auch der aktuellen oder freien Säure statt, wie der in Abbildung 40 dargestellte Versuch zeigt. Je höher der Säuregrad ist, um so höher ist der durch Ausfällung von Weinsäure entfernte Betrag an H-Ionen. Beträgt in der Gegend von 10‰ Gesamtsäure z. B. die Verringerung der Titrationssäure 10%, so beträgt der damit verbundene Rückgang der H-Ionen (gewichtsmäßig) 22%. Um dies zu ersehen, braucht man nur die pH-Zahlen, die ja negative Logarithmen von 10 darstellen zu delogarithmieren¹⁾.

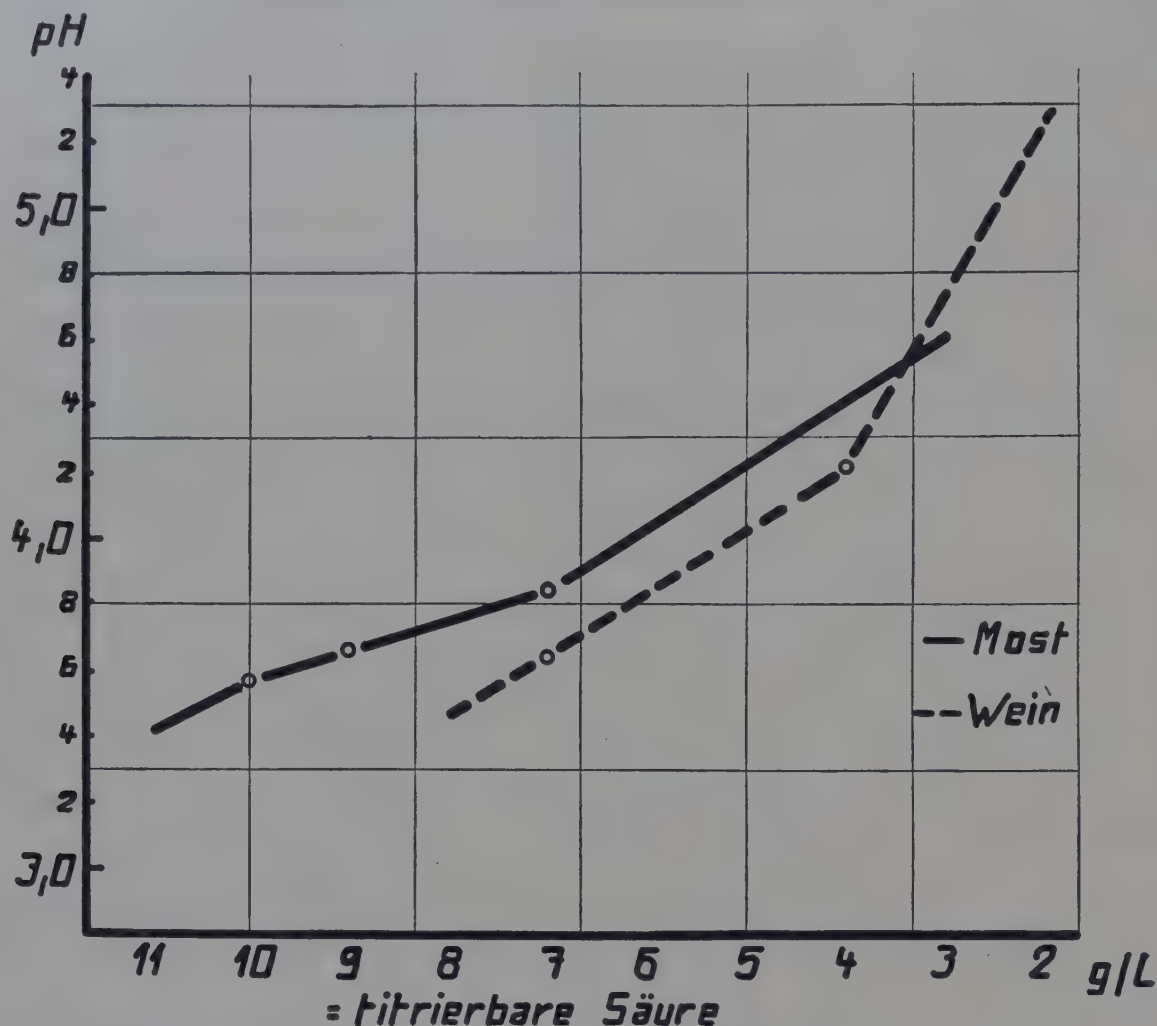


Abb. 40. Die Veränderung der pH-Zahlen durch eine Entsäuerung mittels kohlen-saurem Kalk.

Bisher wurde der chemische Vorgang der Verwandlung der Apfelsäure in Milchsäure beim sog. „biologischen Säureabbau“ in folgender stöchiometrischer Gleichung dargestellt:



In Worten: aus einem Molekül Apfelsäure entsteht ein Molekül Milchsäure und ein Molekül Kohlendioxyd. 1943 habe ich jedoch als erster darauf hin-

¹⁾ Die Behauptung Karl Rippels (Archiv für Mikrobiologie Bd. 14, 1949, Seite 517), daß durch Zugabe von kohlen-saurem Kalk zum Wein nur dessen Titrationsazidität herabgesetzt, aber sein pH-Wert praktisch keine Verschiebung erleiden würde, ist falsch.

gewiesen, daß so einfach dieser Vorgang unmöglich verlaufen könne, denn die Milchsäure weist einen höheren Energiegehalt auf, nämlich 326 Kal. pro Mol. gegenüber Apfelsäure, die nur 320 Kal. je Mol. enthält. Die Säureabbau Bakterien können also durch Umbau der Apfelsäure zu Milchsäure keine Energie gewinnen, sondern benötigen dazu noch Energie. Woher nehmen nun die Säureabbau Bakterien die zu dieser chemischen Arbeit notwendige Energie?

Es gibt 2 Möglichkeiten: 1. Neben der Umwandlung der Apfelsäure laufen noch andere Spaltungsvorgänge, vor allem solche, die Energie liefern können. Da Baragiola und Godet 1913 und 1915 nachweisen konnten, daß zwar nicht in allen, aber in den meisten der von ihnen untersuchten Säureabbauvorgängen der Gehalt der Weine an Ammoniumstickstoff auf Kosten des Eiweißstickstoffes zunahm, ist offensichtlich, daß die Säureabbau Bakterien nebenher auch noch organische Stickstoffverbindungen, die bekanntlich sehr energiereich sind, aufspalten. Somit könnten sie die zum Umbau der Apfelsäure und Milchsäure notwendige Energie auf diesem Wege gewinnen. Auch Hennig¹⁾ und Olske fanden beim Säureabbau eines 1941er Geisenheimer Weines einen Rückgang des Aminostickstoffs. Die andere Möglichkeit wäre, daß die Säureabbau Bakterien einen Teil der Apfelsäure

Wein-Nr.	Rückgang in Millimol			Neuentstanden in Millimol	
	Weinsäure	Apfelsäure	Zitronensäure	Essigsäure	Milchsäure
1	3,0	40,8	4,1	2,5	20,9
2	1,9	47,0	3,8	5,3	22,7
3	0,0	36,8	4,1	6,9	19,6
4	1,9	46,0	5,6	3,8	25,0
5	3,0	50,4	4,0	5,3	27,1
6	2,2	44,0	3,2	2,5	24,8
7	4,8	68,8	2,0	3,2	35,5
8	1,9	51,0	4,5	5,3	27,4
9	2,1	46,1	2,7	1,3	21,4
10	3,7	53,8	2,6	1,9	25,5
11	—	51,0	0,0	0,6	18,8
12	0,0	70,1	4,9	4,4	32,9

¹⁾ Hennig, K. und Olske. Bilanz der Stickstoffverbindungen in einem gärenden Most und Jungwein. Vorratspflege und Lebensmittelforschung. Bd. 5, S. 408. 1942. — Hennig, K. Einige Fragen zur Bilanz der Stickstoffverbindungen im Most und Wein. Zeitschr. f. Lebensmittel-Untersuchung u. -Forschung. Bd. 87, 1943.

total abbauen und dabei Energie gewinnen. Dieser Vorgang wird an die Anwesenheit von H-Akzeptoren oder O-Donatoren gebunden sein. Die 2. Möglichkeit der Energiegewinnung findet eine analytische Stütze in den von Ribéreau-Gayon¹⁾ und Peynaud²⁾ 1938 gelieferten Bilanzen der Apfelsäuregärung in 1936er Bordeaux-Weinen. Diese zeigen, daß tatsächlich nie die der stöchiometrischen Gleichung entsprechenden Mengen an Milchsäure für jedes verschwundene Mol Apfelsäure am Schlusse des Säureabbaues zu finden sind, sondern immer weniger, und zwar nur rund 50%, wie folgende Beispiele aus der zitierten Arbeit zeigen: Siehe Tabelle S. 111.

Die Biochemie kennt heute schon Schemata für die Zucker-Zitronensäuregärung, Zucker-Milchsäuregärung, aber noch nicht für die Apfelsäure-Milchsäuregärung. Es ist zukünftigen biochemischen Arbeiten beschieden, Licht in die sicherlich sehr verwickelten Vorgänge zu bringen. Inwieweit dabei von der Traubenbeere oder von der Hefe stammende Biokatalysatoren eine Rolle spielen, wird sich dann erst ergeben.

Die Möglichkeiten der Lenkung des Säureabbaues in der Kellereipraxis.

Zur Beschleunigung, Intensivierung oder Bremsung dieser bakteriellen Vorgänge stehen dem Kellerwirt folgende Möglichkeiten offen:

1. Vorverlegung oder Hinausziehung des Abstiches von der Hefe, Auf-rühren der Hefe (Intensivierung).
2. Erhöhung oder Erniedrigung der Weintemperatur.
3. Schwache oder starke Schwefelung.
4. Herabsetzung oder Erhöhung des Säuregehaltes.

Ersteres kommt für Traubenweine, letzteres nur für gewisse säurearme Obst- und Beerenweine in Frage.

Zur Frage des Zusatzes von künstlichen Kulturen (Reinkulturen) von Säureabbaubakterien.

Seitdem man weiß, daß der Apfelsäureabbau eine bakteriologische Angelegenheit ist, tauchen immer wieder Vorschläge und Anfragen auf, ob man nicht durch Zusatz von Bakterienkulturen auf einfache Weise im Bedarfs-falle den Säureabbau intensivieren könnte, so wie man durch den Zusatz von Hefereinkulturen jederzeit die alkoholische Gärung der Moste zu beeinflussen vermag.

Die spärlich auffindbaren Angaben zu dieser Frage in der bisherigen Literatur berichten von Mißerfolgen derartiger Bakterienzusätze, sofern es sich um künstliche Kulturen handelte³⁾.

¹⁾ Ribéreau-Gayon et Peynaud. Balance de la fermentation malolactique. Annales Fermentation, Bd. 4, S. 559—569, 1938.

²⁾ Ribéreau-Gayon, J. Etudes sur les transformations du vin par les bacteries. Ebend., Bd. 7, S. 21—39, 74—92 u. 142—156, 1942.

³⁾ Auch Müller-Thurgau und Osterwalder berichten in ihrer großen Arbeit 1912 über einen Versuch mit künstlichem Zusatz von Bakterienreinkul-turen zu 3 Traubenweinen. Die Kontrolle zeigte, daß der Säureabbau von dem von Natur vorhanden gewesen Bakterien vollzogen worden und der Zusatz von Reinkulturen ohne Wirkung war.

Da diese Frage immer wieder gestellt wird, möge hier eine prinzipielle Stellungnahme erfolgen, zumal wir uns in Geisenheim lange damit beschäftigen.

Die Säureabbau Bakterien der Traubenweine gehören zu den schwierigsten und undankbarsten Objekten der angewandten Bakteriologie. Züchtet man sie unter natürlichen Bedingungen in saurem Traubenmost oder -Wein, so wachsen sie entweder überhaupt nicht oder erst zusammen mit Hefe und dann äußerst langsam. Will man in kürzerer Zeit sichtbare Bakterienvegetationen herankultivieren, so muß man sie in entsäuerten Traubenweinen oder Hefewasser, Nährbouillon usw. heranziehen. Bringt man jedoch derartige, an sich sehr individuenreiche, wohlernährte Kulturen in natürliche, säurereiche Traubenweine zurück, so erlebt man immer wieder die Enttäuschung, daß sie dort nicht nur nicht weiterwachsen, sondern in kurzer Zeit sogar zugrunde gehen. Sie sind durch die Zucht bei geringerer Wasserstoffionenkonzentration und durch die Stickstoffmast derart säureempfindlich geworden, daß sie natürlichen Bedingungen nicht mehr gewachsen sind. Mit derartigen Kulturen wäre der Praxis nicht gedient. Das Problem lautet nicht, Bakterien in säurereiche Traubenweine zu bringen, sondern den dort von Natur in jedem Wein in hinreichender Anzahl vorhandenen Säureabbau Bakterien günstigere Bedingungen für ihre Vermehrung und ihre chemische Arbeit zu schaffen.

Es ist etwas ganz anderes, wenn in einem sauren Wein sich von selbst Säureabbau Bakterien in großer Zahl eingestellt haben. Einen derartigen Wein kann man mit Erfolg zum Beimpfen eines anderen Weines benutzen, der eine solche Bakterienentwicklung nicht zeigt und in dem man eine solche wünscht.

Das sind die Gründe, weswegen die „Hefereinzuchtstation Geisenheim“ es aufgegeben hat, sich um Reinkulturen von Säureabbau Bakterien zu bemühen, um solche evtl. an die Praxis abzugeben.

2. Die Systematik der Säureabbau Bakterien der Trauben- und Obstweine

a) Die Bakterien des normalen Säureabbaues

1. *Bacterium gracile* (Müller-Thurgau).

Das häufigste und daher wichtigste Säureabbau Bakterium der deutschen Traubenweine ist das *Bacterium gracile* Müller-Thurgau. Wie die vom Namengeber gewählte Speziesbezeichnung in treffender Weise zum Ausdruck bringt, handelt es sich um ein zierliches Kurzstäbchen, das im Wein perlschnur- oder rosenkranzähnliche Ketten bildet. Das eigentliche Bakterium mißt in der Breite 0.5μ und in der Länge $0.75-1 \mu$. In künstlicher Kultur in eiweißreichen Nährböden werden die einzelnen Zellen wesentlich größer, vor allem dicker, so daß der „gracilis“-Charakter kaum mehr zu erkennen ist. Durch seine charakteristische Gestalt ist es im Wein am leichtesten von allen Bakterienarten zu identifizieren.

In physiologischer Hinsicht besitzt *B. gracile* folgende Eigenschaften: Es verflüssigt Gelatine nicht und ist grampositiv. Temperaturoptimum 22°C . Es vergärt Traubenzucker (Dextrose) zu Milchsäure, Essigsäure und Alkohol. Fruchtzucker (Laevulose) dagegen zu Mannit. Es greift energisch

Apfelsäure an, in schwächerem Maße Zitronensäure; Wein-, Bernstein- und Milchsäure werden dagegen nicht angegriffen. Es besteht ein ausgesprochenes Metabioseverhältnis zur Hefe. Das *B. gracile* erscheint nie gleichzeitig mit der alkoholischen Gärung der Hefe, sondern immer erst einige Monate nachher, oft erst 1 Jahr später. Während seiner Gärtätigkeit nimmt die Viskosität des Weines deutlich zu. *B. gracile* ist ein ausgesprochen heterofermentativer Organismus, d. h. es vermag verschiedene Gärungswege zu gehen. Bei niedrigem pH und niedriger Temperatur ist seine Stoffwechseltätigkeit gebremst und für den Wein segensreich. Bei höherem pH und höherer Temperatur dagegen ist seine Tätigkeit lebhafter und kann sich unter Umständen ungünstig für den Wein auswirken.

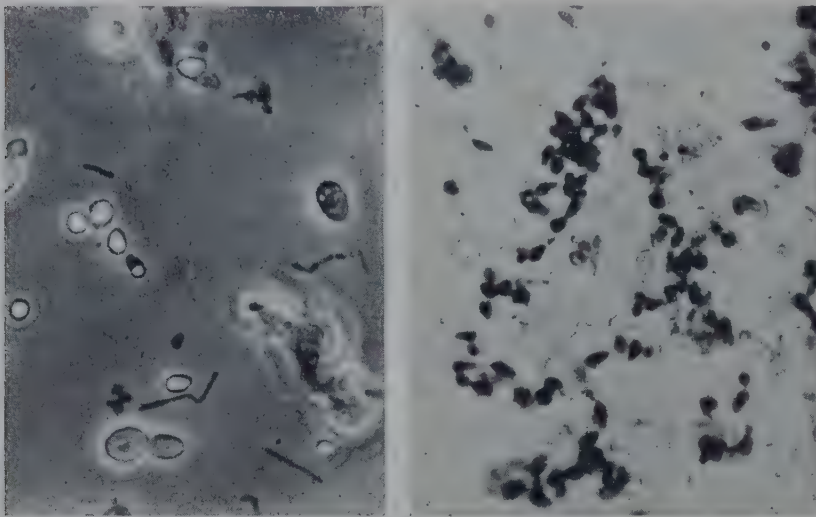


Abb. 41. Links: die Flora eines milchsäurestichigen Traubenweines unter dem Phasenkontrastmikroskop. (Optische Färbung) Vergr. etwa 800fach. Rechts: *Bacterium gracile* neben Hefe mit Karbolfuchsin gefärbt. Vergr. etwa 400fach.

B. gracile ist das Bakterium unserer Moselweine, welche durch es die feine prickelnde Kohlensäure, oft sogar erst auf der Flasche erhalten, ohne daß der Trübungsgrad der Weine erheblich zunimmt. Die Temperaturansprüche dieses Bakteriums sind erstaunlich gering. Nicht selten kommt vor, daß es sich bei 8–10° C Kellertemperatur entwickelt und die Säuregärung durchführt.

2. *Micrococcus malolacticus* (Seifert).

Ordnet man die Säurebakterien nach ihrer praktischen Bedeutung, so muß dieser kleine, zierliche Coccus gleich nach dem *B. gracile* angeführt werden. Durchmesser des Coccus etwa 1 μ . Bei der Teilung bleiben die Teilungsglieder oft mehr oder minder lange Zeit zusammen, so daß neben Einzelkokken stets auch Diplo- und Pediokokken anzutreffen sind.

Physiologie: Apfelsäure wird energisch in Milch- und Kohlensäure verwandelt, die im Wein vorkommenden Zuckerarten in Milchsäure und etwas Essigsäure als Nebenprodukt. Mannitbildung bisher nicht beobachtet.

Dieser Spaltpilz findet sich während des Säureabbaues vornehmlich in rheinhessischen und pfälzischen Weinen von nicht zu hohem Säuregehalt. Er verleiht dem Wein eine mehr oder weniger deutliche Milchsäuregär, die bei zu lebhafter Entwicklung (höhere Kellertemperatur, hoher Stickstoffgehalt des Weines) dieser Mikrokokken sogar aufdringlich und unangenehm in Erscheinung tritt.

3. *Micrococcus acidovorax* und *Micrococcus variococcus* (Müller-Thurgau et Osterwalder).

Diese beiden Mikrokokken unterscheiden sich morphologisch und physiologisch sehr wenig voneinander und auch von dem Seifertschen *Micrococcus*. Ersterer vermag lediglich einige Zuckerarten, nämlich Maltose und Galaktose mehr anzugreifen, als letzterer. Die Artbezeichnung *variococcus* (= verschiedenkugelig) erhielt letzterer, weil die Durchmesser der einzelnen Zellen von $0,7-1,5\ \mu$ variieren können, während *M. acidovorax* gleichmäßig Zellen von $1\ \mu$ Durchmesser bildet.

Beide sind reine Milchsäuregärer, die kein Mannit bilden. Beide bilden Kokken, Diplokokken und Tetraden, sind grampositiv und verflüssigen Gelatine nicht. Temperaturoptimum für beide $26,5^\circ\text{C}$.

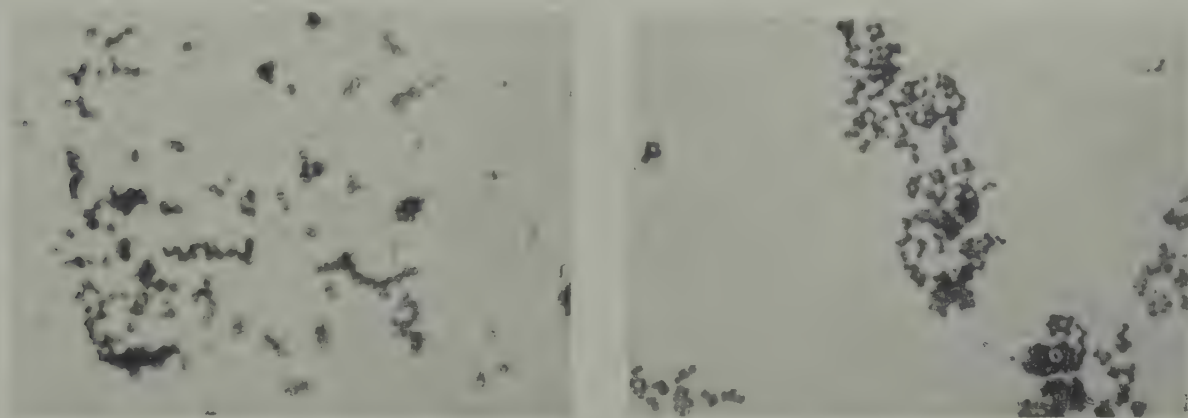


Abb. 42. Links: *Micrococcus variococcus*, rechts: *Micrococcus acidovorax*. Vergr. etwa 1000fach (Nach Müller-Thurgau und Osterwalder).

b) Bakterien des krankhaften Säureabbaues

Während die Bakterien der vorigen Gruppe gesunden, normalen, erwünschten Säureabbau hervorrufen, fakultativ, je nach Außenbedingungen, auch manchmal zu weit darin gehen und sich in Richtung „Milchsäurestich“ entwickeln können, deuten die folgenden Bakterien von Anfang an auf eine Säurearmut des Substrates und auf eine ausgesprochene Neigung zu fehlerhafter Weinentwicklung hin.

1. *Bacterium mannitopoeum* (Müller-Thurgau).

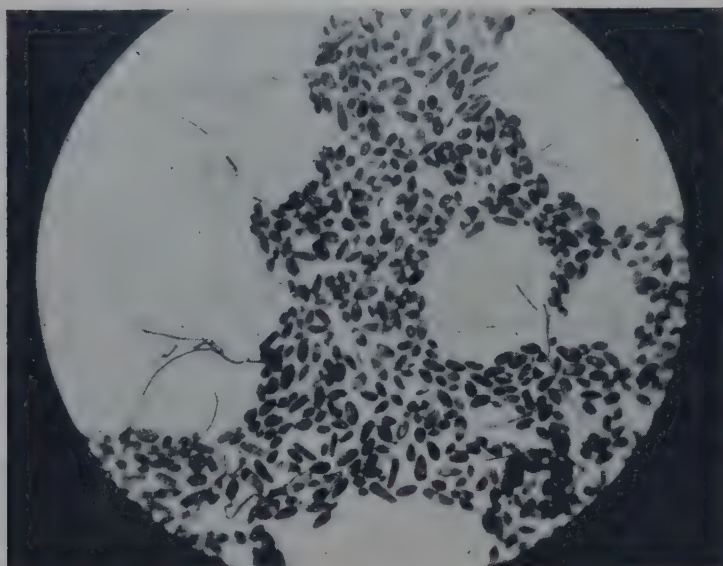
Zum Unterschied von *Bact. gracile* ist es wesentlich robuster. Seine Zellen sind dicker, als *B. gracile* lang ist. Die Dicke beträgt $0,7-1,3\ \mu$ und die Länge kann $2-8\ \mu$ betragen. Es bildet ebenfalls gern zusammengesetzte Stäbchen von oft beträchtlicher Länge. Diese sind aber wegen der Robustheit nicht so zierlich gewunden wie von *B. gracile*, sondern geknickt. Es bildet in säurearmen Obstweinen auch häufig Zoogloen, wie Müller-Thurgau berichtet, oft bis zur Taubeneigröße. Grampositiv, verflüssigt Gelatine nicht.

In chemischer Hinsicht ist es in erster Linie durch die ausgesprochene Neigung zur Mannitbildung aus Zuckern (Mannit = $\text{C}_6\text{H}_8(\text{OH})_6$) ausgezeichnet.

Es verwandelt Äpfel- und Zitronensäure in Milchsäure. Es vermag wesentlich mehr Zuckerarten anzugreifen als *B. gracile*, nämlich außer Trauben- und Fruchtzucker noch Saccharose, Maltose, Xylose, l-Arabinose

und Raffinose, wobei neben Mannit immer erheblich Essigsäure gebildet wird. Wein-, Bernsteinsäure und Milchsäure vermag es nicht anzugreifen.

In deutschen Traubenweinen ist *B. mannitopoeum* sehr selten anzutreffen, dagegen sehr häufig in säurearmen, süßen Südweinen und in Obst- und Beerenweinen. Es verlangt im Gegensatz zu *B. gracile* wesentlich höhere Temperaturen, Optimum 26–34 °C. In warmen Weinländern ist dieses Bakterium gefürchtet, da es unter völlig anaeroben Bedingungen Weine nicht nur mannitstichig, sondern auch essigstichig zu machen vermag. Es hält sich in den Weinfässern mit Vorliebe im Hefegeläger am Grunde der Fässer auf. Anscheinend bezieht es in solchen Fällen von den abgestorbenen Hefezellen Stickstoff in leicht assimilierbarer Form. Wegen dieser Eigenart empfiehlt es sich, in warmen Weinländern bei der Betriebskontrolle Proben stets vom untersten Grund der Fässer zu ziehen, weil man sonst sehr leicht die gefährliche Mannit- und anaerobe Essigbildung übersehen kann.



Tiefere Lagertemperatur, Säurekorrektur und stärkere Schwefelung sind neben sorgfältigem Abstich von der Hefe die besten Maßnahmen, um einer Entwicklung dieses unbedingt gefährlichen Weinbakteriums vorzubeugen.

Abb. 43. *Bact. mannitopoeum* und Apiculatushefen in einem kranken Obstwein. Vergr. 360 fach.

2. *Bacterium tartarophthorum* Müller-Thurgau et Osterwalder (= Weinsteinzerstörer).

Daß Bakterien beim Weinsäure- und Glycerinschwund der Rotweine beteiligt sind, hat schon Pasteur beobachtet. Genauer haben wir jedoch erst darüber durch die Arbeiten von Müller-Thurgau und Osterwalder erfahren.

Dieses Bakterium tritt merkwürdigerweise so gut wie nie in Weißweinen, sondern nur in Rotweinen auf und in letzteren nur, wenn sie von Natur etwas gering an Gerbstoff und Säure sind. Früher, als man noch glaubte, Rotweine dürften nicht in dem Maße geschwefelt werden wie Weißweine, war dieses Bakterium in den deutschen Rotweinen nicht selten anzutreffen. Seitdem aber die Rotweinhersteller gelernt haben, daß ihre Weine keineswegs durch leichte—mittlere Schwefelung Schaden erleiden, ja umgekehrt, sogar besser werden, ist *Bact. tartarophthorum* in deutschen Rotweinen geradezu zu einer Seltenheit geworden.

Morphologie: Kurzstäbchen oder Langstäbchen von 0,8–1 μ Dicke.

Physiologie: Entwicklung aerob wie anaerob, zersetzt Weinsäure und ihre Salze in Essigsäure und Kohlendioxyd. Gleichzeitig baut es Glycerin zu

Essig-, Propion- und Milchsäure ab. Es reduziert Fruchtzucker zu Mannit und baut auch energisch Apfelsäure ab. Höhere Warmegrade beschleunigen den Stoffwechsel.

Müller-Thurgau und Osterwalder berichten von einem Fall eines typisch von diesem Bakterium befallenen Rotweins, in dem innerhalb von 9 Monaten die Weinsäure von 2,68 auf 0,04 g Liter und das Glycerin von 6,1 auf 2,6 g Liter zurückgingen. Gleichzeitig hatte in dem betreffenden Wein die flüchtige Säure von 0,55 auf 3,26 g Liter und der Milchsäuregehalt von 0,92 auf 3,71 g/Liter zugenommen.

Dieselben chemischen Umsetzungen erzielten die genannten Autoren in Laboratoriumsversuchen, indem sie vorher entkeimten Rotweinen Reinkulturen von *B. tartarophthorum* zugesetzt hatten, ein Beweis, daß tatsächlich dieses Bakterium allein diese unerwünschten chemischen Umsetzungen in Rotweinen verursacht.

Die von diesem Bakterium befallenen Rotweine zeigen starken CO_2 -Gehalt, prickeln also, erscheinen mehr milchsäurestichig als essigstichig und wegen des starken Extraktückganges platt. Außerdem verblaßt unter dem Einfluß dieses Bakteriums der Rotweinfarbstoff und zeigt einen Stich ins Bräunliche.

Durch kühle Lagerung und rechtzeitige, ausreichende Schwefelung wird das Aufkommen von *B. tartarophthorum* verhindert. Befallene Weine sind stärker zu schwefeln und auf warmem oder kaltem Wege zu entkeimen.

3 *Bacterium Gayoni* Müller-Thurgau et Osterwalder und *Bacterium intermedium* M. Th. et Ost.

Diese beiden Bakterien unterscheiden sich morphologisch nur sehr wenig oder gar nicht von *Bact. mannitopocum*, sondern nur biochemisch. Während *Bact. mannitopocum* l-Arabinose zersetzt und in geringem Maße auch Zitronensäure, vermögen dies die beiden obengenannten Bakterien nicht. Dafür vermögen sie Milchzucker zu vergären, was *Bact. mannitopocum* nicht kann.

Zusammen mit *Bact. mannitopocum* vermögen *Bact. Gayoni* und *Bact. intermedium* energisch Xylose zu zersetzen, was *Bact. gracile* nicht kann. Beide Bakterien sind grampositiv und keine Gelatineverflüssiger.

Man sieht daraus, daß es unmöglich ist, allein auf Grund morphologischer Merkmale diese Weinbakterien zu unterscheiden, man muß biochemische Merkmale zu Hilfe nehmen und selbst diese sind nicht sehr konstant. *Bact. Gayoni* und *Bact. intermedium* unterscheiden sich voneinander nur darin, daß ersteres aus Dextrose viel und letzteres wenig Essigsäure bildet, weiterhin, daß ersteres Apfelsäure nicht anzugreifen vermag, während letzteres das sehr energisch tut, unter Bildung von Milchsäure und Kohlensäure.

4. *Bacillus viscosus vini* Kramer.

Während Müller-Thurgaus und Osterwalders Milchsäure- und Mannitbakterien keine Sporen bildeten, isolierte Kramer 1892 aus sehr stark zersetzten kroatischen Weinen einen Sporenbildner, der Mannit bildete und die Weine zähflüssig machte, nur anaerob wuchs und sich nicht auf den üblichen festen Nährböden züchten ließ.

5. *Bacillus amaracrylus* Voisenet.

Ein dem *Bact. tartarophthorum* sehr nahe verwandtes Bakterium, das nach den Angaben seines Entdeckers Glycerin und Essigsäure, Ameisensäure und Acrylsäure zersetzen soll. Die Acrylsäure soll mit anderen Stoffen des Weines bitter schmeckende Verbindungen bilden, daher die Bezeichnung (amarus = bitter).

Über das Bitterwerden der Rotweine hat bereits Pasteur gearbeitet und Bakterien dafür verantwortlich gemacht. Zahlreiche andere Autoren haben nach ihm ebenfalls Bakterien für das früher bei Rotweinen häufig gewesene Bitterwerden verantwortlich gemacht.

Müller-Thurgau und Osterwalder haben in ihrer großen, klassisch zu nennenden Arbeit „Die Bakterien im Wein und Obstwein und die dadurch verursachten Änderungen“ 1912 ausführlich über die verschiedenen Befunde und Ansichten zahlreicher Autoren referiert und kritisch Stellung genommen.

Ihnen selbst ist es nämlich nicht gelungen, entkeimte Rotweine durch Impfung mit den verschiedensten, auch aus bitteren Rotweinen isolierten Bakterien bitter zu machen. Sie weisen darauf hin, daß Rotweine erst im Laufe der Jahre, vor allem wenn sie durch häufige Abstiche viel mit Luft in Berührung kommen, den typischen Bittergeschmack erhalten.

Genau wie die Glycerin- und Weinsäurezersetzung in deutschen Rotweinen in den letzten Jahrzehnten immer seltener geworden ist, so auch das Bitterwerden der Rotweine. Sehr wahrscheinlich hängt das mit der Kellerbehandlung der Rotweine zusammen. Während man früher diese sehr wenig schwefelte und viel mit Luft in Berührung brachte, schwefelt man sie heute fast wie Weißweine. Damit beugt man nicht nur Bakterienkrankheiten vor, sondern auch einer raschen Sauerstoffübertragung auf oxydable Weinsubstanzen. Sehr wahrscheinlich ist das Bitterwerden der Rotweine, ähnlich wie das nachher zu besprechende „Mäuseln“ der Weine, mehr eine physikalisch-chemische als bakteriologische Angelegenheit, vermutlich eine Angelegenheit des Redoxpotentials.

6. *Lactobacillus hilgardii* Douglas et Cruess.

Douglas und Cruess haben 1935 ein Milchsäurebakterium beschrieben, das in säurearmen, kalifornischen Süßweinen die Krankheit des „Umschlagens“ verursacht. Es bildet aus den Zuckern des Weines Milch- und Essigsäure, aber kein Mannit. Sie nannten es dem ältesten kalifornischen Oenologen Dr. E.W. Hilgard zu Ehren *Lactobacillus hilgardii*.

1937 berichteten Douglas und McClung, 1938 Cruess über ein weiteres, bisher nur in Kalifornien vorgefundenes Milchsäurebakterium, das bis auf 22 Vol. % aufgespritzte Süßweine befällt, zwar keine großen chemischen Veränderungen an den Weinen hervorruft, aber sie mit Baumwollflocken ähnlichen Vegetationen trübt, weswegen die kalifornischen Kellereipraktiker es für einen Pilz hielten und „Baumwollschimmel“ (cottony mold) nannten (siehe Abb. 44). Das Bakterium bildet sehr lange zusammengesetzte Fäden, welche ineinander verfilzen. Douglas nennt es „Hair-bacillus“. Einen wissenschaftlichen Namen hat es bisher noch nicht bekommen.

Das „Mäuseln“ der Weine

Bis zu der klassischen Arbeit Müller-Thurgaus und Osterwalders über die Weinbakterien (1912) wurde das „Mäuseln“ allgemein zu den Weinfehlern gezählt. Die beiden Autoren führten jedoch auf Grund einiger Beobachtungen beim Studium hauptsächlich ihres *Bact. mannitolpocum* das Mäuseln auf Bakterientätigkeit zurück, und so zählt seitdem in der oenologischen Literatur das Mäuseln zu den Bakterienkrankheiten. Der Name Mäuseln rührt von einem widerwärtigen, an Mäseharn erinnernden Geruch und einem beim Kosten der Weine am Gaumen haftenden üblen Geschmack her.

Müller-Thurgau und Osterwalder glaubten sich zu ihrer Schlußfolgerung aus 2 Gründen berechtigt,

1. weil in mit Reinkulturen ihrer Bakterien versetzten Weinen und Nährlösungen mehrmals dieser Geruch auftrat,
2. weil in von Natur mäuselnden Weinen zu wiederholten Malen dieselben Stoffwechselprodukte und die gleichen Bakterienformen wie von *Bact. mannitolpocum* festzustellen waren.

Diese Schlußfolgerungen sind an sich sehr überzeugend und einleuchtend. Es stellte sich jedoch bei meinen umfangreichen Untersuchungen über die Redoxpotentiale von Obst- und Traubenweinen heraus, daß das Erschei-

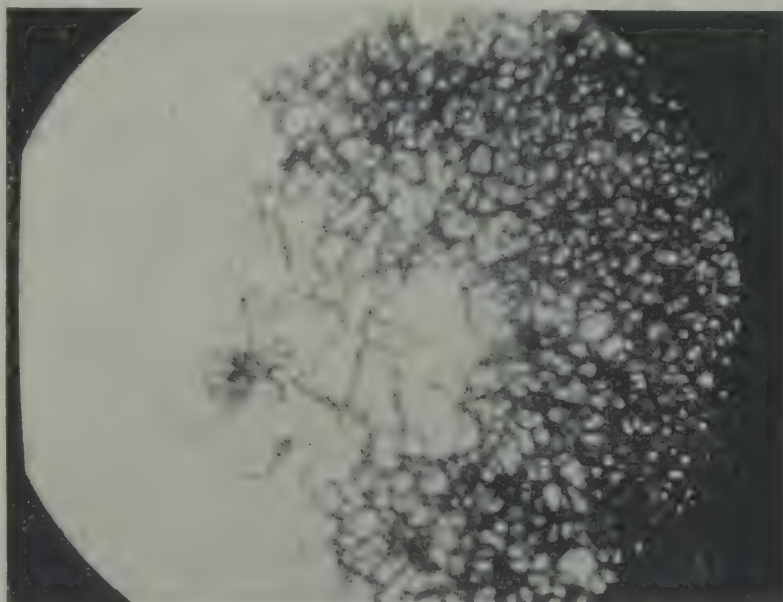


Abb. 44. Der „Baumwollschimmel“ in kalifornischen Weinen ist ein in-
einander verfilzte Fäden
bildendes Kurzstäbchen.
Vergr. 400 fach.

nendes typischen Mäuselgeruches und -geschmacks nicht von der Anwesenheit von bestimmten Bakterien, sondern lediglich von einer bestimmten Höhe des Redoxpotentials¹⁾ abhängig ist.

Andererseits hatte ich Jahre vorher in 80 Versuchen an den verschiedensten, absichtlich sehr säurearm eingestellten, warm vergorenen und mit Reinkulturen von *Bact. mannitolpocum* ausgiebig beimpften Obstweinen vergeblich das Mäuseln auf bakteriologischem Wege künstlich zu erzeugen versucht. Nur in 2 Fällen schien es gelungen zu sein, aber in der Wiederholung der gleichen Bedingungen ließ sich das Mäuseln nicht wieder reproduzieren.

¹⁾ Schanderl, H. Die Reduktions-Oxydations-Potentiale während der Entwicklungsphasen des Weines. Der Weinbau (Wissenschaftl. Beihefte) 2. Jahrg., S. 209—229, 1948. — Die Ursachen der Mäuselkrankheit der Weine. Schweiz. Ztschr. f. Obst- und Weinbau Nr. 18, S. 301—305, 1948.

Diese Widersprüche klärten sich beim Studium der Redoxpotentiale der verschiedenen Entwicklungsphasen der Weine auf einmal mit absoluter Klarheit auf.

Wenn man die rH-Zahl eines nicht zu alten Obst- oder Traubenweines durch geringfügige Zugaben von Wasserstoffsuperoxyd über den Bereich von 21 hinaus langsam nach oben verschiebt, so erscheint innerhalb von 1–2 Stunden der charakteristische Geruch und Geschmack des Mäuselns. Wenn man das gleiche Experiment an Most durchführt, erscheint das Mäuseln nicht. Daher muß der Schluß gezogen werden, daß der Grundstoff des Mäuselns bei der alkoholischen Gärung entsteht. Dieser Grundstoff — bis jetzt noch unbekannt — geht anscheinend im Wein bei der Alterung verloren; denn Weine mit ausgesprochener Firne lassen sich durch Erhöhung der rH-Zahl nicht mehr mäuselnd machen.

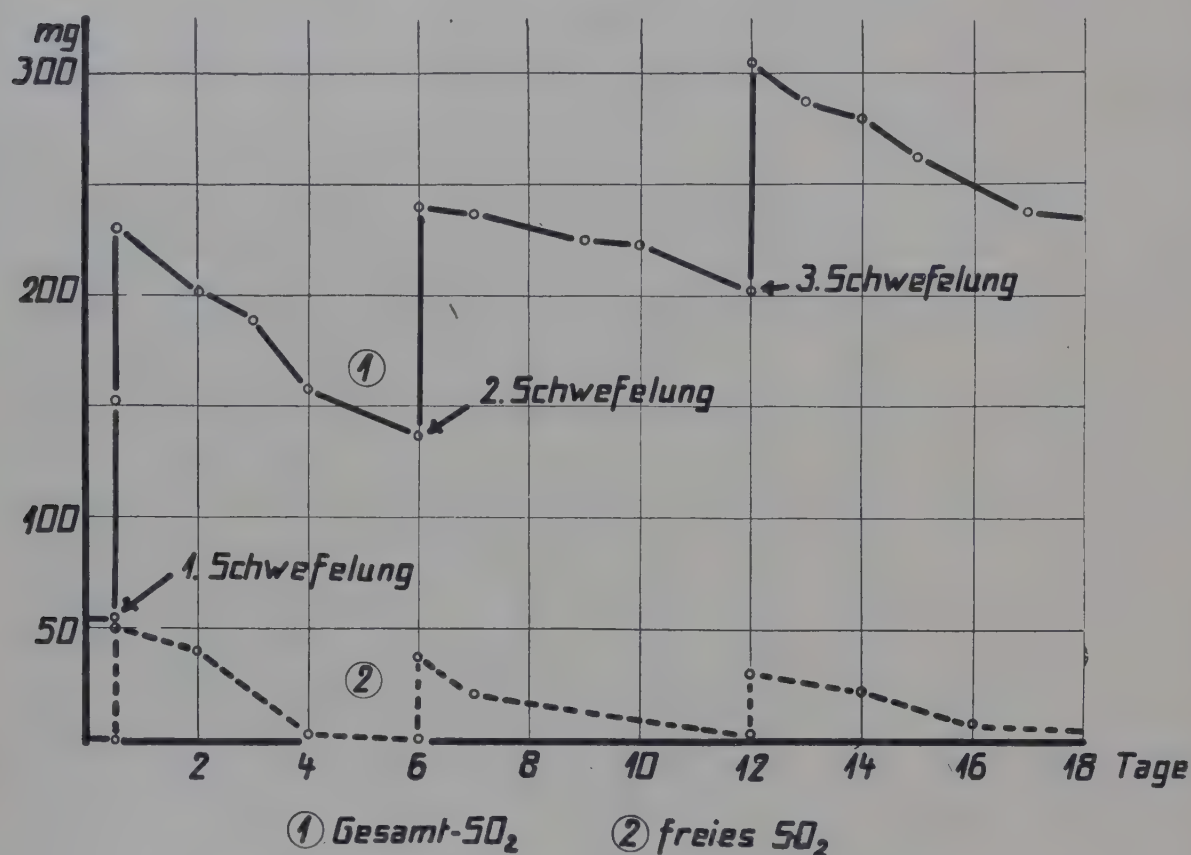


Abb. 45. Die Bewegung der gesamten (= 1) und freien (= 2) schwefligen Säure in einem sehr stark mäuselnden Apfelwein, der in 3 Portionen hintereinander insgesamt 350 mg SO₂ zugesetzt bekam. In der Fachsprache des Küfers war er ein „Schwefelfresser“, denn er verdaute innerhalb von 18 Tagen 200 mg SO₂, das in SO₄ verwandelt wurde, wie die Sulfatanalyse zeigte. Der Mäuselgeschmack war in 18 Tagen erheblich zurückgegangen.

Wird die rH-Zahl über 25 hinaus erhöht, so mäuselt der betreffende Wein nicht, sondern nimmt lediglich einen Oxydationsgeschmack an. Das „Mäuseln“ ist also an einen ganz bestimmten rH-Bereich gebunden. So wie das Mäuseln innerhalb kurzer Zeit durch Erhöhen der rH-Zahl des Weines künstlich erzeugt werden kann, so vermag man durch Senken der rH-Zahl, also durch Reduktion, den widrigen Geschmack zum Ver-

schwinden zu bringen. Dieser Vorgang des „Entmäuseln“ dauert jedoch bedeutend länger.

Leichtes Mäuseln kann man mit leichten Reduktionsvorgängen, wie Umgären, Schwefeln, schweres Mäuseln jedoch nur mit sehr hohen SO_2 -Gaben oder Wasserstoff in statu nascendi rückgängig machen.

Mäuselnde Weine sind geradezu „Schwefelfresser“, wie die Abb. 45 zeigt. Die schweflige Säure wird von mäuselnden Weinen in kurzer Zeit in Schwefelsäure oxydiert.

Früher behauptete man, der Mäuselstoff wäre Acetamid. Es kann sich jedoch ein jeder in einfacher Weise davon überzeugen, daß diese Verbindung, selbst in größeren Mengen in Wein gelöst, den Wein keineswegs mäuselnd macht. Alle Anzeichen deuten darauf hin, daß der Mäuselstoff Aldehydcharakter haben muß. Entweder entsteht er durch Dehydrierung, wobei der zugefügte Sauerstoff als Wasserstoffakzeptor dient, oder er entsteht durch echte Oxydation.

Das von den oben angeführten Mannitbakterien aus Fruchtzucker gebildete Mannit kann man als hydrierten Fruchtzucker auffassen: denn das Mannit unterscheidet sich von Fruchtzucker nur durch ein Mehr von 2 Wasserstoffatomen. Diese 2 H-Atome müssen irgendwelchen anderen Verbindungen durch Dehydrierung abmontiert oder es müssen freie Wasserstoffionen dazu verwendet werden.

Dank ihres Enzymreichtums sind Bakterien zu derartigen Wasserstoffabspaltungen und Wasserstoffverschiebungen fähig. Sie wirken sich natürlich auf das Redoxpotential der Weine aus. Das Wesentlichste am Zustandekommen des Mäuseln ist jedoch das Redoxpotential.

Immer sind mäuselnde Weine durch hohe rH-Zahlen ausgezeichnet, ganz gleich, ob sie Bakterien enthalten oder nicht. Andererseits können

Bakterien vom Typus *B. mannitolpocum* oder *B. tartarophorum* in Fülle vorhanden sein, wenn die rH-Zahlen der Weine unter 20 sind, mäuseln sie niemals. Das Hauptgegenargument gegen die Auffassung des Mäuseln als einer Bakterienkrankheit ist die Tatsache, daß

1. Weine ohne jegliche Bakterianwesenheit mäuselnd werden, wenn ihre physikalisch-chemische Konstitution so ist, daß sich durch Luftzutritt rH-Zahlen über 20 ausbilden und halten können,
2. Weine in 1–2 Stunden durch künstliches Verschieben der rH-Zahlen in den „Mäuselbereich“, typisch mäuselnd gemacht werden können.

Die Hefen liefern in demselben Maße den Grundstoff, der bei bestimmten rH-Zahlen zum Mäuselstoff wird wie die Bakterien. Daher kann man die von Müller-Thurgau und Osterwalder genannten Bakterien nicht mehr als die eigentlichen Erreger dieser Krankheit ansprechen. Sie sind mit bestimmten Stoffwechselprodukten nur indirekte Erreger, wozu aber auch die Hefen

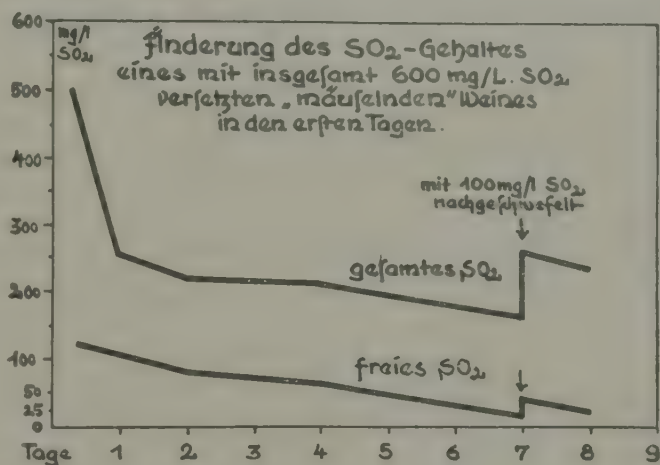


Abb. 46. Erläuterung im Bild selbst.

zählen, bei deren Stoffwechsel in der alkoholischen Gärung derselbe Grundstoff anfällt, der sich sekundär, bei rH-Zahlen von 20—25, chemisch verändert und zum Mäuselstoff wird.

Die Krankheit des Mäuselns entsteht nur dann, wenn die Moste bzw. Weine zu wenig oder überhaupt nicht geschwefelt wurden, wenn sie schleppend goren, zu warm lagen und Gelegenheit hatten, Luft aufzunehmen. Bei Traubenweinen ist das Mäuseln durch die hier allgemein streng, meist sogar zu reichlich durchgeführte Schwefelung sehr selten geworden. Dagegen ist das Mäuseln noch sehr häufig bei hausgemachten Obst- und Beerenweinen anzutreffen, weil hier noch häufig die Anwendung von SO_2 unbekannt ist.

Die Anwendung von Kohleschönung bei mäuselnden Weinen hat keinen Sinn, sie sind vielmehr mit 200—500 mg SO_2 im Liter zu versetzen und kühl zu lagern. Meist verschwindet dann nach einigen Wochen der üble Geruch und Geschmack. Dafür muß man allerdings ein Zunehmen von Sulfationen in Kauf nehmen.

Buttersäurebakterien

Das Vorkommen von Buttersäurebakterien im Wein ist außerordentlich selten und trifft nur unter ungewöhnlichen Bedingungen ein. Von solchen außergewöhnlichen Umständen, verbunden mit der Entwicklung von Buttersäurebakterien in Traubenwein, berichten 1890 Mach und Portele. Rebepflanzungen an der Etsch waren noch im Spätsommer von Hochwasser überschwemmt worden. Nach dem Rückgang des Hochwassers blieb auf den Traubenbeeren ein starker Niederschlag von Dolomitenkalk des Etschwassers zurück. Dieser bewirkte als kohlensaurer Kalk bei der Kelterung der Trauben eine derart starke Entsäuerung, daß in dem Wein neben Milchsäurebakterien auch Buttersäurebakterien zur Entwicklung kamen und die Weine buttersäurestichig wurden.

Müller-Thurgau und Osterwalder berichteten 1912 von einem Fall, bei dem sie in einem künstlich stark entsäuerten Wein Buttersäurebakterien mit Eigenbewegung und auch einen an Buttersäure erinnernden Geruch feststellten.

Die Buttersäurebildner sind sporenbildende Bakterien; die hauptsächlichste Sammelart führt die Bezeichnung *Bacillus amylobacter*.

Die Essigsäurebakterien

Die deutschen Traubenweine haben gegenüber den Weinen südlicher Länder einen geringeren Alkoholgehalt, durchschnittlich etwa 10 Vol.%. In schlechten Weinjahren ist der Alkoholgehalt niedriger. Bei diesem niedrigen Alkoholgehalt sind die Weine Essigbakterien gegenüber besonders gefährdet. Dieser Umstand zwingt den deutschen Kellerwirt zu ganz besonderer Sorgfalt. Niemals könnte er, wie es in südlichen Ländern geschieht, seinen Wein unter Luftzutritt vergären. Der niedrige Alkoholgehalt seiner Weine zwang den deutschen Kellerwirt zur Vergärung unter Luftabschluß, d. h. unter einem Gärspund. Die Verwendung eines Gärspundes ist heute in Deutschland, selbst bei kleinsten Winzern, gang und gäbe.

Der Mindestalkoholgehalt, der die Gefahr des Essigstiches bannt, ist bei den in Deutschland üblichen Weinkellertemperaturen bei 12 Vol.%. In südlichen Ländern mit weitaus höheren Weinlagertemperaturen ist erst mit

15 Vol. % ein Wein gegen Essigstich gefeit. Die Gefahr des Essigstichs ist wohl auch der Grund, daß die Weine in südlichen Ländern, wenn sie nicht von der Natur diese Alkoholstufe erreichen, häufig aufgespritzt werden.

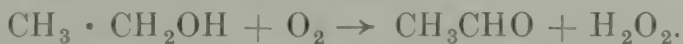
Die Essigbakterien sind in der Natur sehr verbreitet. Sie sind in jedem Wein vorhanden und warten sozusagen lediglich auf günstige Bedingungen, das sind Luftzutritt und höhere Temperatur — ihr Optimum liegt bei $30-35^{\circ}\text{C}$ —, um sich zu vermehren und ihre chemische Tätigkeit zu vollziehen. Es braucht nur etwas mehr als 1 g Liter Essigsäure zu entstehen und der Wein erleidet eine nicht mehr korrigierbare Wertverminderung, ja von einer gewissen Menge Essigsäure ab wird er unweigerlich den Gesetzesvorschriften nach als verkehrsunfähig erklärt. In Deutschland dürfen Weißweine des Handels nur bis 1,2 g und Rotweine nur bis 1,6 g Liter Essigsäure enthalten. Lediglich Trockenbeerenausleseweine dürfen höhere Mengen aufweisen.

Jeder Wein, der mehr Essigsäure als diese Grenzzahlen angeben, enthält, gilt als verdorben, darf nicht weiter behandelt oder verschnitten werden, sondern kann lediglich der Essigindustrie zugeführt werden.

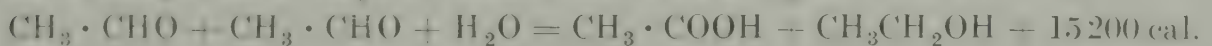
Die Biochemie der Essigsäuregärung

Summarisch verläuft die Essigbildung aus Aethylalkohol folgendermaßen: $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2\text{OH} + \text{O}_2 = \text{CH}_3\text{COOH} + \text{H}_2\text{O} - 116000 \text{ cal.}$

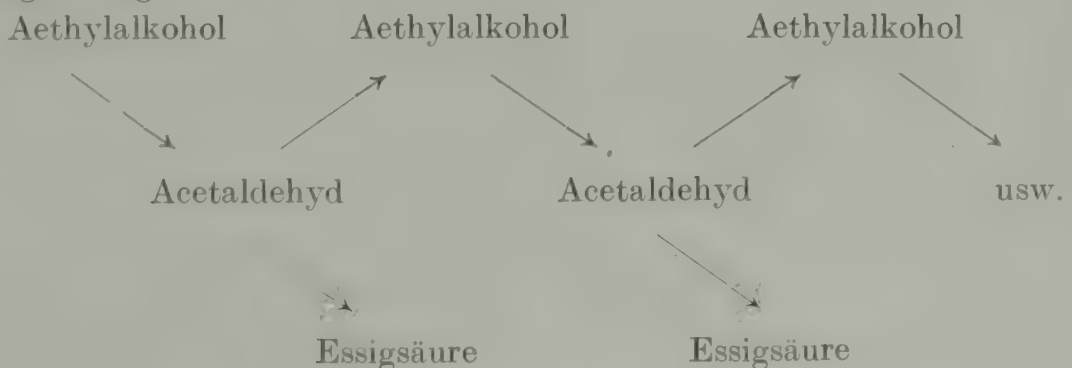
Diese Formel sieht so aus, als ob es sich um eine echte Oxydation, also eine Sauerstoffübertragung auf den Alkohol, handeln würde. Durch neuere Arbeiten von C. Neuberg und H. Wieland wissen wir aber nun, daß der Luftsauerstoff nicht auf das Ausgangsmaterial übertragen wird, sondern daß er als Wasserstoffakzeptor dient. Eine Dehydrase dehydriert den Alkohol zu Acetaldehyd nach der Formel:



Als Zwischenprodukt entsteht Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2), das für die Bakterien sehr giftig wirken würde, wenn es nicht sofort durch das Enzym Katalase in Wasserstoff und Sauerstoff zerlegt würde. Es gibt jedoch unter den Essigbakterienarten eines (*B. suboxydans*), dem die Katalase fehlt, so daß sich infolgedessen H_2O_2 anreichert. Sodann werden 2 Moleküle Acetaldehyd einer Oxydoreduktion unterworfen gemäß der Formel:



Äußerst interessant ist, daß bei diesem Vorgang wieder Aethylalkohol rückgebildet wird, d. h. neu entsteht. Der Vorgang nimmt also folgenden eigenartigen Weg:



Daß der Luftsauerstoff tatsächlich nur die Rolle eines Wasserstoffakzeptors bei der Essigsäuregärung spielt, konnte man in überzeugender Weise dartun, indem man den Essigbakterien in Luftabwesenheit Aethylalkohol und als Wasserstoffakzeptor Methylenblau bot. So gelang es unter völlig anaeroben Bedingungen Essigsäuregärungen durchzuführen.

Die wichtigsten Arten der Essigbakterien

Zur Unterscheidung der einzelnen Arten genügen nicht allein morphologische Merkmale — diese sind sehr schwankend —, sondern es müssen möglichst zahlreiche andere Merkmale, wie Hautbildung, Beschaffenheit der Haut, Bildung von Schwärmzellen, Färbung durch alkoholische Jodlösung oder Jod-Jodkaliumlösung mit 70%iger Schwefelsäure, Bildung von Essigsäureäthylester usw., herangezogen werden.

Eine Blaufärbung der Zellmembranen nach Jodbehandlung zeigen nach Wüstenfeld folgende Arten: *B. xylinum*, *B. xylinoides*, *B. Küntzingianum*, *B. Pasteurianum* und *B. Pasteurianum* var. *agile* (Hoyer).

Diese Blaufärbung ist eine Zellulosereaktion; denn diese Bakterien verstehen es bereits, aus glukosehaltigem Nährmaterial echte Zellulose aufzubauen. Zum Unterschied von höheren Pflanzen, welche die Zellulosefibrillen in den Zellwänden lagenweise in gleicher Richtung anordnen, liegen bei diesen Bakterien die Zellulosefibrillen ungeordnet, kunterbunt durcheinander.

a. Dicke, gallertartig-schleimige, naßschimmernde, im Alter fast lederartige Häute bildend

Bacterium xylinum (Brown) (xylinus = holzig). Diese Bakterien haben eine stark verquollene Zellmembran, welche Zellulosereaktion gibt. Daher hängen alle Zellindividuen zusammen und bilden eine einzige hautartige „Zooglöe“. Diese Essigbakterien-Zooglöen haben im Volksmund die Bezeichnung „Essigmutter“.

Das *Bacterium xylinum* bildet keinen sehr feinschmeckenden Essig. *B. xylinum* ist das einzige Essigbakterium, das Rohrzucker kräftig invertieren und in Essig verwandeln kann. In Weinessigkufen bildet es Zooglöen von 1 m und mehr Durchmesser und einer Dicke von 10–30 cm.

Temperaturoptimum 35–37 ° C, Abtötungstemperatur 50 ° C. Nicht sehr leistungsfähig, verträgt nicht mehr als 7 Vol.% Alkohol, höchste gebildete Essigsäuremenge 4,5%.

b. Mattglänzende, mehr oder minder trockene Häute bildend

a) An Glaswänden nicht hochsteigend

Bacterium orleanense Henneberg. Dünne, mit Jod sich nicht blaufärbende Langstäbchen, im Alter eine etwas gefaltete, seidenpapierähnliche Haut bildend. Das Bakterium wurde von Henneberg „orleanense“ getauft, da es sich wegen seiner schnellen Hautbildung besonders für die Weinessigherstellung nach dem alten Orleansverfahren eignet. Temperaturoptimum 25–30 ° C. Sehr leistungsfähig, bildet bis 9,3% Essigsäure, daher beliebtes Kulturessigbakterium.

Bacterium Pasteurianum (Hansen). Dicke, kettenbildende Kurzstäbchen. Blaufärbung mit Jod. Temperaturoptimum 34°C . Verträgt bis 9.5 Vol. % Alkohol, liefert jedoch nur bis 6.2 % Essig, der einen scharfen Geruch aufweist. Außerdem neigt *B. Pasteurianum* zu Überoxydation.

β) Haut an der Glaswand deutlich hochsteigend

Bacterium ascendens (Henneberg). Kurze Stäbchen, oft zu zweien (Semmelform) ohne deutliche Kettenbildung. Flüssigkeit stark trübend, auffallend hoch an der Glaswand emporsteigend, bläulich opaleszierende feine

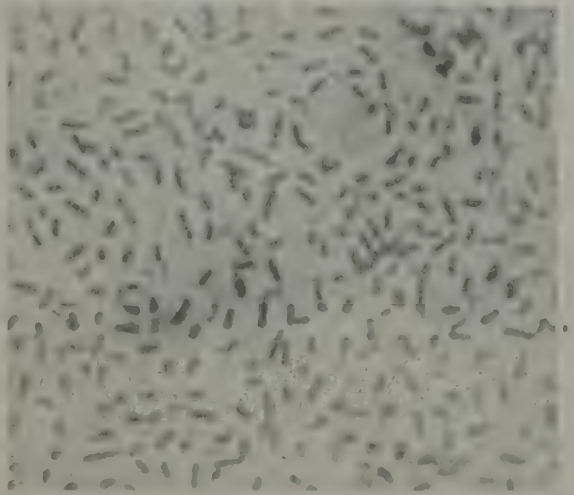


Abb. 47. *Bacterium ascendens* in Reinkultur. Vergr. 1000fach.

Haut, keine Schwärmer bildend. Temperaturoptimum 31°C , Minimum 10°C . Vermag Weine bis 12 Vol. % Alkohol (bei Optimaltemperatur) anzugreifen. Chemisches Charakteristikum: reichliche Erzeugung von Essigsäureäthylester. Bei niedrigen Essigsäuremengen oxydiert *B. ascendens* die Essigsäure weiter.

Im Alter verleiht es dem Essig einen eigentümlichen, unangenehmen Geruch. Aus all' diesen Gründen ist dieses Bakterium für häusliche und industrielle Essigerzeugung gänzlich ungeeignet.

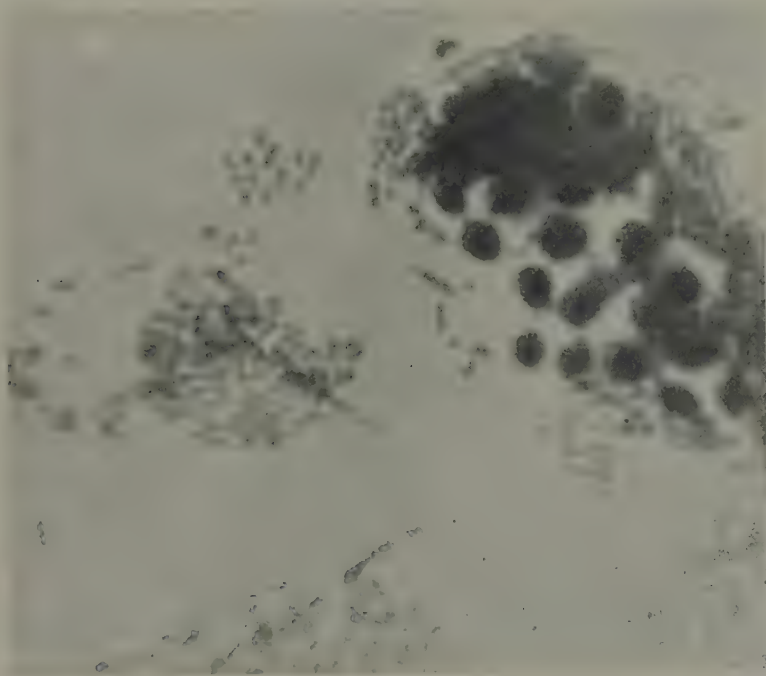


Abb. 48. *Bacterium vini acetati* zusammen mit Hefe. Vergr. etwa 900fach.

Henneberg führt als Weinessigbakterium noch an:

Bacterium vini acetati (Henneberg), bildet eine sehr wenig zusammenhängende Haut, bestehend aus $0.8-2\ \mu$ kleinen rundlichen oder länglich eiförmigen Zellen, welche sich mit Jod nicht färben. Säuert auch Glycerin. Temperaturoptimum $28-33^{\circ}\text{C}$, Minimum 10°C .

Bacterium xylinoides (Henneberg). Wie der Name sagt, dem *B. xylinum* ähnlich, bildet jedoch zuerst einzelne Hautinseln, welche später zusammen-

wachsen zu einer Seidenpapier- oder Flockenhaut, die im Alter immer mehr der „Lederhaut“ von *B. xylinum* ähnlich wird. Starker Polymorphismus der Einzelzellen. Einziges sicheres Unterscheidungsmerkmal gegenüber *B. xylinum* ist die Bildung wasserheller, schleimiger Massen auf Würzagar, wo hingegen *B. xylinum* trockene, hellbraune Überzüge auf Agar bildet. Temperaturoptimum bei 24–28 ° C.

Nutzanwendungen aus der Physiologie der Essigbakterien für die praktische Kellerwirtschaft

1. Die Essigbakterien sind allgemein gegen SO₂ sehr empfindlich. Most von sauerfaulen Trauben stärker einschwefeln, um die Entwicklung der Essigbakterien im Wein zu verhindern.
2. Alle Essigbakterien sind mehr oder minder wärmeliebend, niedrige Temperaturen behindern ihre Stoffwechseltätigkeit.
3. Zur Essigbildung ist Sauerstoff der Luft als Wasserstoffakzeptor notwendig. Daher strenges Abhalten der Luft vom Wein, Spundvollhalten der Fässer, Verwendung von Gärspunden bei der Gärung.
4. Bei der Allgegenwart von Essigbakterien im Weinkeller und Wein strengste Sauberkeit im Weinkeller, Entfernung aller Wein- und Mostreste aus Schläuchen, Bütten und Geräten, die eine Beute der Essigbakterien würden und Infektionsherde abgeben können.
5. Die Essigsäure kann durch keinerlei chemische Mittel aus dem Wein entfernt werden. Die einzige Möglichkeit der Entessigung bietet die Anwendung einer Hefedecke im oxydativen Stadium (siehe S. 60), welche aber bei den deutschen Weinen wegen ihres niedrigen Alkoholgehaltes nicht anwendbar ist.

C. Die in der Mikrobiologie der Weinbereitung direkt oder indirekt eine Rolle spielenden „Schimmelpilze“

In der Praxis hat sich eingebürgert, diejenigen Pilze, welche mit dem bloßen Auge wahrnehmbare, fädige Vegetationskörper bilden, von den anderen mit der Bezeichnung „Faden- oder Schimmelpilze“ zu unterscheiden.

Die Zellmembran gibt meistens Chitin-, seltener Zellulosereaktion. Der einzelne Pilzfaden wird botanisch Hyph (griech. = Gewebe), deren Gesamtheit Mycelium genannt. Die Hyphen haben Spitzenwachstum und können ungliedert oder in Zellen unterteilt sein.

Die Fadenpilze vermehren sich ungeschlechtlich (vegetativ) und geschlechtlich. Die ungeschlechtliche Vermehrung kann auf verschiedene Art geschehen:

- a) durch Sporenerzeugung innerhalb eigener Behälter, sog. Sporangien, also endogen,
- b) durch Abschnürung von Zellen an bestimmten Stellen zu Konidien, also exogen,
- c) durch Zerfall oder Abschnürung von Hyphen in einzelne kurze Glieder zu sog. Oidien. Die Kugelhefen der Mucoraceen sind den Oidien analog,

- d) durch Abschnürung von Hyphen zu derbwandigen Dauersporen, sog. **Chlamydosporen** (*chlamys* griech. = Mantel),
- e) durch Abschnürung oder Verkapselung ganzer Myzelien oder Myzelteile zu Dauerformen sog. „Sklerotien“ (*skleros* griech. = trocken, hart, fest).

Die geschlechtliche Vermehrung ist ebenfalls sehr mannigfaltig und interessiert in diesem Zusammenhang weniger. Ist die Kenntnis der geschlechtlichen Vermehrungsart praktisch wichtig, so wird darauf im folgenden bei dem betreffenden Pilz kurz eingegangen.

Entwicklungsgeschichtlich müssen wir die Pilze folgendermaßen ordnen:

1. die Klasse der *Phycomycetes* oder Algenpilze
2. „ „ „ *Eumycetes* oder die höheren Pilze
 - a) Unterklasse der *Ascomycetes* = Schlauchpilze
 - b) „ „ *Basidiomycetes* = Ständerpilze.

Daran schließt der Pilzsystematiker die noch sehr große Gruppe der sog. „*Fungi imperfecti*“, der „unvollkommenen“ Pilze, besser zu übersetzen „die unvollkommen bekannten“ Pilze; denn sie sind nicht alle von Natur aus etwa unvollkommen, sondern von den meisten sind nur noch nicht sämtliche Formen ihres Lebenskreislaufes bekannt.

1. Die *Phycomycetes* oder Algenpilze

Von den 5 Ordnungen dieser Pilzklasse kommt gärungswissenschaftlich lediglich die Familie der *Mucoraceen* oder Köpfchenschimmelpilze der 5. Ordnung *Zygomycetales* in Frage. Die Vertreter der *Mucoraceen* sind erdbewohnende Schimmelpilze, die hauptsächlich saprophytisch auf den toten pflanzlichen oder tierischen Stoffen leben. Sie heißen vulgär „Köpfchenschimmelpilze“, weil sie von ihrem Myzelrasen aus, mit dem sie das Substrat überziehen, kugelige köpfchenförmige, mit dem bloßen Auge sichtbare Sporenbehälter an sog. Luft- oder Traghyphen in die Luft entwickeln. Die Sporangienträgerhyphen sind positiv phototropisch (= lichtwendig), d. h. sie wachsen zum einfallenden Licht und reagieren schon auf ganz geringe Lichtintensitäten. Die Sporenbehälter mancher Gattungen und Arten haben eine leicht zerfließliche Wand, die bei Berührung mit tropfbar flüssigem Wasser sofort zerfließt, wodurch die Sporen frei werden. Die Sporen keimen im geeigneten Substrat sofort wieder zu neuen, ungekammerten oder gekammerten Myzelien aus.

Bei verschiedenen Arten sind die Myzelien verschiedengeschlechtlich. Äußerlich ist die geschlechtliche Differenzierung nicht erkenntlich. Daher bezeichnet man die Myzelien mit $+$ oder $-$. Treffen $+$ Myzel und $-$ Myzel aufeinander, dann bilden sie eine Zygote, in der die $+$ und $-$ Kerne nach paarweisem Aneinanderlegen später verschmelzen. Nach einer sog. „Reduktionsteilung“ wächst aus der derbwandigen, sehr dauerhaften Zygote ein Sporangium, das im Gegensatz zu den gewöhnlichen Sporangien die Hälfte $+$ und die Hälfte $-$ Sporen enthält, die zu $+$ oder $-$ Myzel auskeimen. Wir haben hier also ganz deutliche Sexualvorgänge.

Von weinmikrobiologischen Gesichtspunkten aus betrachtet ist als wichtigster Vertreter *Mucor racemosus* (racemosus = verzweigt) zu nennen. Er hat verzweigte, traubige Sporangienstände.

Dieser Pilz infiziert vor allem auf die Erdoberfläche gefallene Trauben (sog. Erdtrauben), angefallenes Obst, Erdbeeren usw. bei entsprechend feuchter Witterung. Dadurch können manchmal große Mengen Sporen und Hyphen dieses Pilzes in die Trauben- oder Obstmaischen und in den Most gelangen.

Die Hyphen gleichen sich in völlig flüssigem Nährmedium in bezeichnender Weise dadurch an, daß sie sich in kugelförmige Oidien, die sog. „Kugel- oder Mucorhefe“, abschnüren und wie Hefezellen ringsherum durch Sprossung neue Kugeln erzeugen. Diese Mucorhefezellen sind jedoch bedeutend größer als die Zellen der echten Hefen, so daß sie nur von Unkundigen oder wenig Geübten mit echter Hefe verwechselt werden können.

Makroskopisch (d. h. ohne Mikroskop) allein läßt sich nicht entscheiden, ob in einem an-

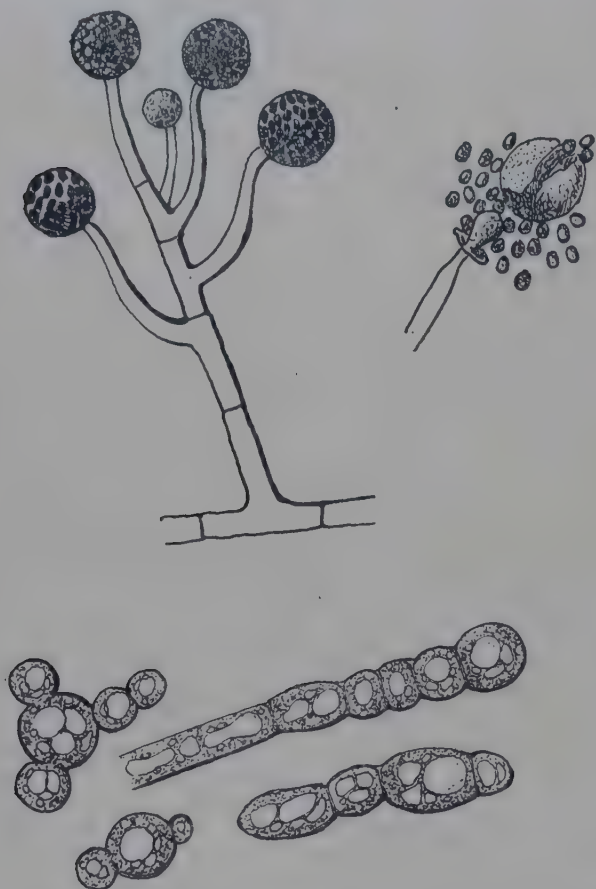


Abb. 49. *Mucor racemosus*. Oben links Konidienstand. Oben rechts reifes, aufbrechendes „Köpfchen“. Unten links sog. „Mucorhefe“ rechts davon eine in Oidien abgegliederte Hyphe.

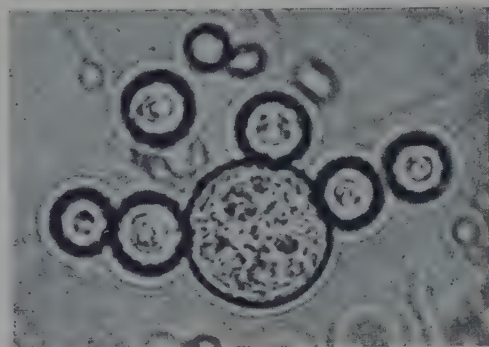


Abb. 50. Blastokonidien (= Mucorhefe) unter dem Phasenkontrastmikroskop. Vergr. etwa 700fach.

gärenden Substrat echte oder unechte Hefe vorliegt, da die Mucoroidien (vielfach auch Gemmen genannt) und die untergetaucht wachsenden Hyphen ganz flott zu gären vermögen. Sie liefern 4–5 Vol. % Alkohol. Daneben werden auch aus Zuckern verschiedene organische Säuren, wie Oxalsäure, Bernsteinsäure sowie etwas Glyzerin gebildet. Interessant ist, daß *Mucor racemosus* sehr gut Rohrzucker invertiert und dadurch vergären kann.

In der Praxis der Trauben- und Obstweinbereitung wird er in der Regel bei der Mostgärung von den gärungstüchtigeren echten Hefen überflügelt.

Seine Hyphen und Oidien werden von Alkoholkonzentrationen von 5 bis 7 Vol.% aufwärts getötet und so ausgeschaltet.

In der Getreide- und Kartoffelbrennerei spielen einige Mucorarten wegen ihrer Diastaseproduktion eine Rolle. Sie werden anstatt von Garmalz zur Ver-zuckerung der Stärke verwendet. Man hat für diese Pilze vielfach die Gattungsbezeichnung *Amglomyces* (= Stärkepilz) eingeführt, so z. B. *Amglomyces Rouxii* (= *Mucor Rouxii*) oder *Amglomyces Delemar* (= *Rhizopus Delemar*). Die Ver-zuckerung mittels dieser Pilze heißt in der Brennereipraxis „Amyloverfahren“.

Die Mucoraceengattung *Rhizopus* (= Wurzelfuß) ist durch die Fähigkeit der Ausläuferbildung (Stolonen) sowie durch eine derbe, nicht zerfließliche Sporangienwand und die Bildung eigenartiger, wurzelförmiger Haftorgane (Rhizoiden) und Chlamydosporenbildung gekennzeichnet. Kugelhefebildung fehlt.

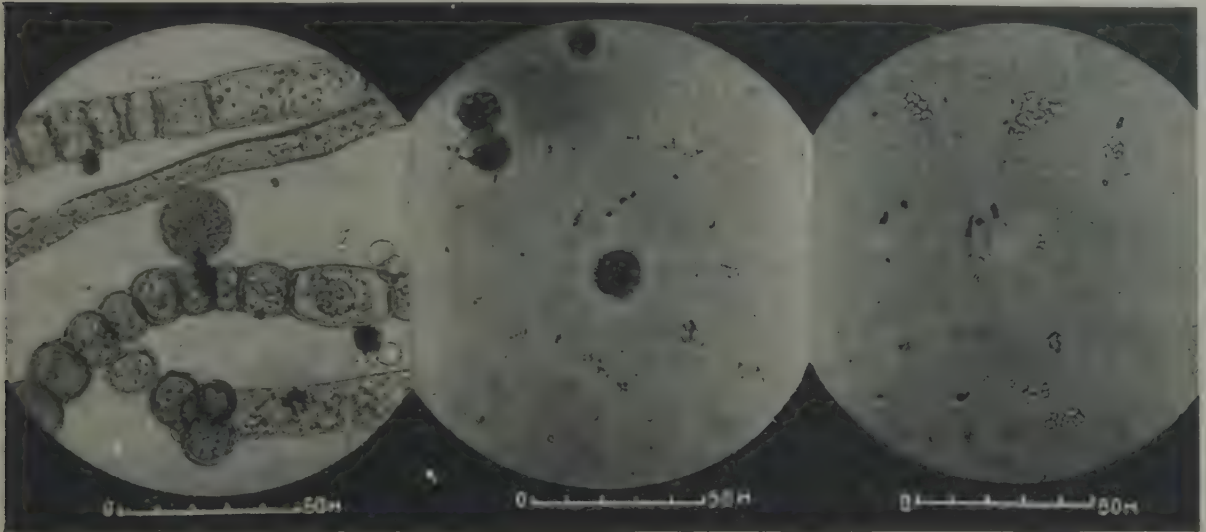


Abb. 51. *Mucor racemosus*. Links: Hyphen, Oidien und Blastokonidien (= Hefen), dazwischen Chondriosomen geplatzter Zellen. Mitte: 4 Blastokonidien, dazwischen zu Tetraden und chinesischen Schriftzeichen konfigurierte Chondriosomen. Rechts: Isolierte und auf Bakteriennährböden weiterkultivierte Chondriosomen.

Rhizopus nigricans (= schwarzwerdend), mit Büscheln von Sporangienträgern und schwarzen Sporangien, ist ebenfalls häufig auf faulenden Trauben und Obst, das auf dem Boden lag, anzutreffen. Seine Hyphen vermögen ebenfalls Pektine zu lösen, Stärke zu verzuckern und Zucker zu vergären. Er liefert jedoch nur 1–2 Vol.% Alkohol und bildet als Nebenprodukte Bernstein-, Fumar-, Essig-, Glukon- und Oxalsäure. *Rh. nigricans* ist bedeutend alkoholempfindlicher als *Mucor racemosus* und unterliegt wesentlich früher der Konkurrenz mit Hefen.

Verschiedene *Rhizopus*-Arten bilden einen antibiotischen Stoff, der Rhizopin genannt wurde und der spezifisch giftig für Nagetiere ist. *Rhizopus japonicus* (Vuillemin) wird wegen seiner Diastaseproduktion in der Getreidebrennerei verwendet.

Als Testpflanze für quantitative Aneurinbestimmungen wird die Phycomycetenspezies *Phycomyces Blakesleeanus* benützt. Dieser Pilz bildet mächtige, bis zu 10 cm lange Sporangienträger von der Dicke eines Pferdehaares, an deren Ende ein dunkelbraun gefärbtes, kugeliges Sporangium sitzt.

2. Die Schimmelpilze aus der Eumyceten-Unterklasse der Ascomycetes (= Schlauchpilze)

Die Ordnung der *Plectascales* (= verflochtene, schlauchige), welche kugelige, geschlossene Fruchtkörper (Perithezien) bildet, in denen aus schraubig gewundenen askogenen Hyphen die Asci mit den Askosporen entstehen, enthält die Familie der *Aspergillaceae*. Weinmikrobiologisch sind nur 2 Gattungen dieser Familie von Bedeutung, nämlich die Gattung *Aspergillus* (aspergere = besprengen) und die Gattung *Penicillium* (= Pinselchen) mit der Untergattung *Citromyces*.

Beide Gattungen unterscheiden sich morphologisch vor allem in dem Bau ihrer Konidienstände.

Bei der Gattung *Aspergillus* sind die Konidienträger unverzweigt und kolbig angeschwollen, während bei der Gattung *Penicillium* die Konidienträger verzweigt sind. Bei *Aspergillus* wachsen aus der kolbenförmigen Anschwellung der Trägerhyphs kegelfigurenähnliche Gebilde, die sog. „Sterigmen“. Der Kopf der Kegelfigur wird jeweils zur Konidiospore. Eine Sterigma erzeugt nach und nach eine ganze Kette von Sporen. Bei *Penicillium* entstehen an den Enden des verzweigten Konidienträgers Wirtel und Büschel von Sterigmen. So ähnelt bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung der Konidienstand einer *Aspergillus*-Art einer Gießkannenbrause, aus der Wasser herausschießt, (daher die deutsche Bezeichnung „Gießkannenschimmel“) und derjenige von *Penicillium* einem „Quastepinsel“.

Beide Arten bilden neben den ungeschlechtlichen Konidiosporen auch geschlechtliche Sporen in kugeligen, Stecknadelkopfgroße erreichenden Behältern, den sog. Perithezien, wo aus eigenartig schraubig gedrehten Hyphen die Asci und darin die Askosporen (je 8 pro Askus) entstehen. Bei den wenigsten *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten ist bis jetzt der ganze Entwicklungsgang, der mit Askosporen in Perithezien abschließt, bekannt. Daher haben wir das eigenartige Bild, daß in systematischen Werken die größere Anzahl der Arten bei den *Fungi imperfecti* (das sind Pilze mit unvollständigem oder unvollständig bekanntem Lebenszyklus) steht und nur wenig Arten bei den Eumycetes.

Der Katalog des Zentralbureaus für Pilzkulturen in Baarn (Holland) 1943 weist 110 *Aspergillus*- und 211 *Penicillium*-Arten und Unterarten auf. Für die systematische Bestimmung der Aspergillien sind folgende Merkmale wichtig:

1. Bauart und Farbe der Konidienträger,
2. Größe und Form der Konidien,
3. Farbe des Myzels in der Jugend und im Alter,
4. Perithezien- oder Sklerotienbildung,
5. chemische Eigenschaften.

Die *Aspergillaceen* sind chemisch außerordentlich leistungsfähige Pflanzen. Daher spielen viele von ihnen seit altersher bei der Aufbereitung von Pflanzenmaterial, z. B. Sojabohnen und Reis in Ostasien, bei der Herstellung von Käse, Gallussäure oder neuerdings von antibiotischen Stoffen (Penicillin) eine bedeutende Rolle.

Die *Aspergillaceen* sind in hohem Maße zu hydrolytischen Spaltungen von Kohlehydraten, Glukosiden, Tannin, Fett und Eiweiß befähigt.

Der aus Ostasien stammende Reis-*Aspergillus* (*A. oryzae*) ist ein besonders leistungsfähiger Stärkeverzuckerer, der seit altersher in China und Japan zur Herstellung von Reishier oder Reiswein (Saké) verwendet wird. Unter dem Einfluß eiweißspaltender Enzyme bestimmter *Penicillium*-Arten erhalten gewisse Käsesorten ihre spezifische Reifung und Aroma (*Penicillium camemberti* (Thom) und *P. roqueforti* (Thom)). In der Neuzeit sind aus *Aspergillaceen* die für die Süßmostindustrie fast unentbehrlich gewordenen pektinlösenden Enzyme (Pektolasen) gewonnen worden, die unter dem Namen Filtragol, Pektinol usw. in den Handel kommen.

Verschiedene *Aspergillaceen* sind auch zur alkoholischen Gärung fähig, wenn auch das Alkoholbildungsvermögen nicht sehr ausgeprägt ist. Technische Bedeutung haben *Aspergillaceen* vor allem durch ihre Fähigkeit zu oxydativen Gärungen erhalten, worunter die Zitronensäuregärung die wichtigste ist. Neben Zitronensäure aus Zucker vermögen sie jedoch noch Zucker-, Glukon-, Koji-, Apfel-, Fumar-, Bernstein-, Milch- und Oxalsäure zu bilden.

Weinmikrobiologisch spielen die *Aspergillaceen* eine Rolle, indem sie schon im Weinberg verletzte Traubenbeeren befallen und den Zucker der Traubenbeere zerstören können, vor allem aber durch ihre esterartigen Geruchstoffe, die sich im Wein leicht lösen und schon in ungeheurer Verdünnung dem Wein einen muffigen Schimmelgeschmack verleihen.

Wenn ein Weinflaß oder ein Flaschenkork nur kurze Zeit von *Aspergillaceen* myzel befallen war, so kann der Wein davon schweren Schaden erleiden. Ja selbst auf der Flasche ist der Wein vor ihnen noch nicht restlos geschützt; denn Myzelien solcher Schimmelpilze wachsen von außen her in den Korkstopfen, vor allem wenn er zu locker gebaut ist und von vielen starken Lentizellengängen oder gar von Fraßgängen der Korkmotte durchzogen ist. Sie verändern dabei auch die Gerbstoffe des Flaschenkorks, wodurch dieser eine blut- oder purpurrote Farbe erhält. Wegen der Empfindlichkeit des Weines gegenüber Schimmelpilzgeruchsstoffen werden die Flaschenkorke von Schaumwein- und Weinkellereien „abgerochen“ und sorgfältig aussortiert. Es werden auch manchmal die Lentizellengänge am Korkspiegel ausgeschnitten, weil darin oft schon vom Naturkork her sich Schimmelpilze befinden. Die *Aspergillaceen* vermögen sich im Notfall bei genügender Luftfeuchtigkeit auch allein von den Mikrokondensationen der flüchtigen Weinbestandteile zu ernähren. Alkohol in Konzentrationen bis zu 2 Vol. % ist ihnen eine willkommene Kohlenstoffquelle.

Die weinmikrobiologisch wichtigsten Gattungen und Arten der *Aspergillaceen* sind:

1. *Aspergillus glaucus*. Konidienträgerrasen in der Jugend hellolivgrün, später graugrün, schließlich graubraun. Durchmesser des Konidienträgerkolbens bis 90 μ , der Konidie 7–10 μ . Myzelfarbe in der Jugend hellgelb, im Alter schmutzig-rotbraun. Perithezienbildung sehr häufig. Perithezien schwefelgelb–grünlichgelb. Fast in jedem Weinkeller auf Strohhülsen und Flaschenkorken zu finden.

2. *Aspergillus niger* (= schwarz). Konidienträgerrasen schwarzbraun, Sterigmen oft ziemlich lang. Konidien glatt, 3–4 μ Durchmesser. Myzelfarbe weiß–gelblichweiß. Perithezienbildung bisher nicht beobachtet. Technisch benutzt zur Darstellung der Gallussäure aus Tannin, der Zitronensäure aus Zucker und von Pektolase.

Wie *A. glaucus* häufiger Bewohner von Flaschenkorken und Flaschenhülsen aus Stroh. Ebenso *A. flavus* mit gelben-grünlichgelben Konidienträgerrasen und gelblichem Myzel.

3. *Penicillium glaucum* = *P. crustaceum* (crusta = Kruste). Konidienrasen in der Jugend hellblau, dann dunkelgrün, im Alter bis schmutzigbraun,



Abb. 52. a = jüngerer, b = älterer Konidienstand von *Aspergillus*.

Abb. 53. Konidienstaude von Pinselschimmel. a = *Penicillium*, b = *Citromyces*.

Konidien kugelförmig, fettig, wasserabstoßend, von 2–2,5 μ Durchmesser. Myzel in der Jugend schneeweiß, später grau, Sklerotien häufig, Perithezien selten. Mit beginnender Konidienbildung Entwicklung von Schimmelgeruch.

4. *Penicillium luteum*. Konidienrasen in der Jugend olivgrün, später schmutziggrün, Konidien ellipsoid, 2–3 μ Durchmesser, Myzel zitronengelb, Perithezien gelb-orange. Perithezienbildung häufig.



Abb. 54. *Sphaerulina intermixta* (= *Dematium pullulans*). Links: Die Hyphen bilden eben Blastokonidien (= *Dematiumhefe*). Rechts: Dauerkonidien = Rußtauform.

5. *Penicillium purpurogenum*. Konidienrasen dunkelgrün, später grau-grün, Sterigmen zugespitzt, Konidien ellipsoid 2–3 μ Durchmesser, Myzel gelbbrot, vor allem mit Gerbstoff rote–purpurrote Farben bildend, Farbstoff

geht in Most in Lösung, so daß er mit der Zeit ganz rot gefärbt wird, wie wenn er von roten Traubensorten gekeltert worden wäre. Perithezienbildung unbekannt. Häufig auf Flaschenkorken.

6. Untergattung *Citromyces*. Wie *Penicillium*, jedoch Konidienträger kaum septiert und am Ende zu einer kleinen kugeligen Blase angeschwollen, auf der die Sterigmen sehr fest sitzen können. Perithezien unbekannt. Technische Verwendung als Zitronensäurebildner.

Zur 7. Ordnung der *Ascomyces*, den *Sphaeriales*. Familie *Mycosphaerellaceae* wird heute der bisher zu den *Fungi imperfecti* gerechnete Rußtaupilz *Dematium pullulans* gerechnet, d. h. *D. pullulans* ist nichts anderes als eine Nebenfruchtform des Pilzes *Sphaerulina intermixta* (B. et Br.) Sacch., genau so wie der nah verwandte Apfelschorf *Fusicladium dendriticum* lediglich eine Nebenfruchtform von *Venturia inaequalis* ist.

In niederschlagsreichen Jahren sind die Blätter und Früchte von Pflaumen, aber auch von Trauben, stark von diesem Rußtaupilz befallen. Besonders üppig entwickelt er sich in den zuckerhaltigen Absonderungen der Blattläuse. Darin bildet er, wie in Keltermost oder sonstigen zuckerhaltigen Flüssigkeiten, Sproßzellen, die täuschend Hefezellen ähnlich sehen. Daher spricht man von „*Dematium*-Hefen“. Diese Zellen sind als Oidien zu bezeichnen, die später zu dickbehäuteten Gemmen mit mächtigen Fetteinschlüssen werden. Gleichzeitig mit der Fettbildung erscheinen sie immer dunkler, schließlich sogar schwarz (Rußtaupilzform). Durch die ausgiebigen Fetteinschlüsse sind diese Gemmen außerordentlich widerstandsfähig, ertragen langes Austrocknen und behalten ihre Keimkraft 1–2 Jahre.

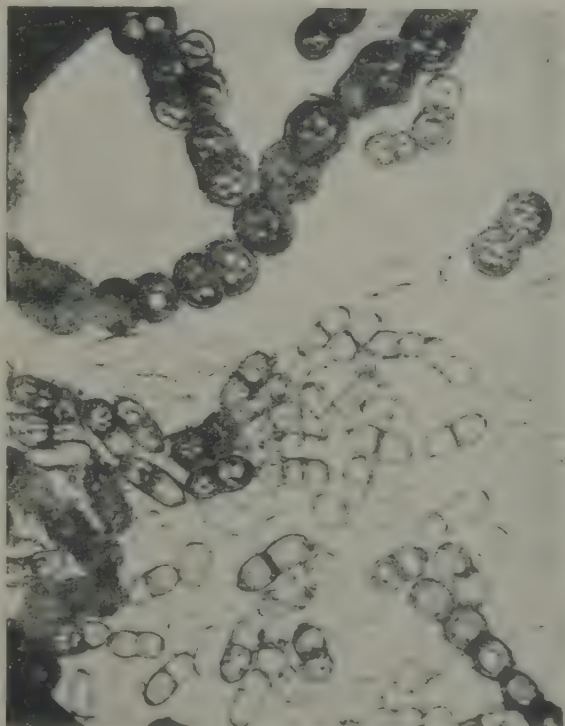


Abb. 55. *Sphaerulina intermixta* bei der Bildung von Dauerkonidien.

Sie ertragen wenig Alkohol, daher werden die „*Dematium*hefen“ in Keltermost alsbald von den echten Hefen niedergehalten und unterdrückt. Bleibt aber aus irgendwelchen Gründen die Entwicklung echter Hefen aus, so kann dieser Pilz einen Obst- oder Traubenmost in eine süßliche, schleimige Gallerte verwandeln, die — wie schon einmal vorgekommen ist — nur mehr aus dem Faß durch Zerlegung desselben entfernt werden kann. Als chemische Produkte bildet die Nebenfruchtform von *Sphaerulina intermixta* aus Glukose etwas Alkohol, Acetaldehyd, Essig-, Milch-, Bernstein-, Glucon- und Oxalsäure.

Die Asci und Askosporen werden nur im Freien auf Zweigen gebildet (8 Sporen je Askus).

3. Fadenpilze aus der Gruppe der *Fungi imperfecti*

a) *Botrytis cinerea*.

Unter den Pilzen mit unvollständigem oder unvollständig bekanntem Entwicklungsgang ist für den Wein der bedeutendste der sog. Edelfäulepilz = *Botrytis cinerea* Pers. Zwar vermutet man neuerdings, daß *Botrytis cinerea* vielleicht eine Nebenfruchtform eines zu den Scheibenpilzen (*Pezizales*) gehörenden Ascomyceten der Gattung *Sclerotinia Fuckeliana* (de Bary) darstellt. Der kulturelle Nachweis der Hauptfruchtform, nämlich von Perithezien, ist aber bisher nur sehr selten gelungen. Solange dies nicht einwandfrei nachweisbar ist, muß *Botrytis cinerea* systematisch bei den „Imperfecten“ untergebracht werden.

Morphologie von *Botrytis*. Myzel zunächst oberflächlich wuchernd, verzweigt und gekammert. Rasen in der Jugend weiß-durchsichtig, später grau, graugrün, bräunlich und schwärzlich werdend. Konidienträger gabelig oder baumartig verzweigt, mit 3 oder mehr halbkugelig angeschwollenen Endästen, an denen an sehr feinen Wärcchen die Konidien gebildet werden. Konidien 9—15 μ lang, 6—10 μ breit, birnförmig. In freier Natur auf oder unter der Haut der befallenen Traubenbeeren und in der Kultur häufig schwarze, kugelige 3—4 mm lange und 2 mm dicke Sklerotien bildend, die aber keine Asci, sondern nur weißes Plektenchym enthalten. In künstlicher Kultur in Glasgefäßen kann man schön beobachten, daß die Hyphen von *Botrytis cinerea*, dort wo sie auf Glas auftreffen, eigenartige quastenförmige Haftorgane, die der Mykologe „Apressorien“ nennt, bilden. Derartige Haftorgane bildet er auch in der freien Natur. Die Zellwände der Hyphenspitzen verschleimen und verquellen. Durch diese Schleimhülle haftet das Myzel fest an der Unterlage, und von hier aus dringt die Spitze der Hyphe in die Hautzellen z. B. der Traubenbeere ein.



Abb. 56. a = normaler Konidienstand von *Botrytis cinerea*, b = falscher Konidienstand, wie ihn der Pilz häufig in Laboratoriumskulturen bildet.

Physiologie. *Botrytis cinerea* verursacht die Grau- oder Edelfäule der Traubenbeeren. Ob die Graufäule eine Edelfäule wird, hängt nicht vom Pilz, sondern von der Herbstwitterung ab. Wie Müller-Thurgau in einer umfangreichen Arbeit bereits 1888 nachwies, lockert der Pilz das Hautgewebe der Traubenbeere, wodurch Wasser leichter ein- und austreten, sowie der Sauerstoff der Luft besser in die Beere eindringen kann.

Bei Regenwetter verlieren die befallenen Trauben durch Auswaschung den kostbaren Zucker und der *Botrytis*-Befall wirkt sich qualitätsmindernd für die Ernte aus. Herrscht dagegen sonniges, trockenes Herbstwetter, so bewirkt der *Botrytis*-Befall durch die beschleunigte Wasserverdunstung der Traubenbeere ein Ansteigen der Zuckerkonzentration des Beerensaftes. Dieser Umstand allein würde jedoch nicht zu einer Veredlung der reifen Beere und zu einer „Edelfäule“ führen, wenn nicht *Botrytis cinerea* gegenüber anderen Schimmelpilzen, wie z. B. *Penicillium* und *Aspergillus*, die besondere Eigenschaft hätte, schneller die Fruchtsäuren als den Zucker anzugreifen. Durch die Verdunstung kommt es nicht gleichzeitig zu einer Konzentrierung der Fruchtsäuren, sondern es geht neben dem Ansteigen der Zuckerkonzentration im Beerenfleisch eine Verminderung des Säuregehaltes einher.

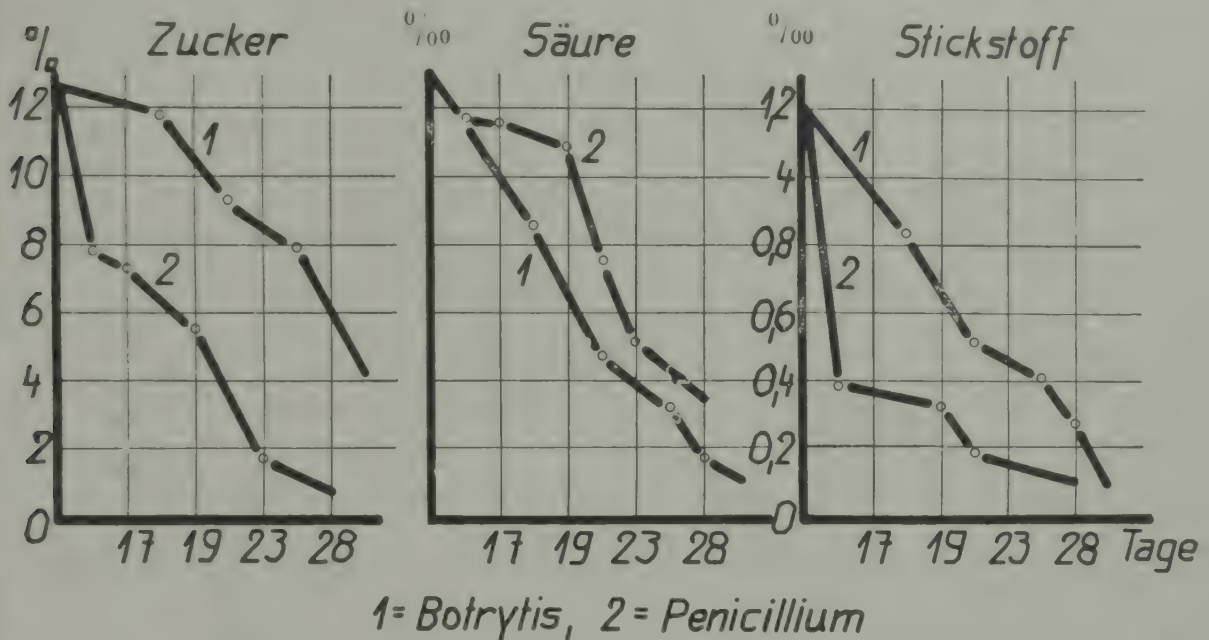


Abb. 57. Der Einfluß von *Botrytis cinerea* und *Penicillium glaucum* auf den Zucker-, Säure- und Stickstoffgehalt des Traubenmostes. (Dargestellt nach Zahlenangaben von Müller-Thurgau.)

Müller-Thurgau¹⁾ stellte an Rieslingtrauben der Weinbergslage „Rüdesheimer Berg“ 1886 folgendes fest:

100 gesunde Beeren gaben 100 ccm Most,

100 edelfaule Beeren gaben 52 ccm Most.

In 100 ccm Most gesunder Beeren waren 18.24 g Zucker,

In 100 ccm Most edelfauler Beeren waren 30.26 g Zucker.

Der Most der gesunden Beeren hatte 8.9‰, derjenige der edelfaulen Beeren 7.9‰ Gesamtsäure.

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, daß einerseits die Mostausbeute durch den *Botrytis*-Befall verringert wird und daß der Zuckergehalt des Mostes bei gleichzeitigem Rückgang des Säuregehaltes erheblich ansteigt. Bei den von Natur sehr säurereichen Rieslingtrauben wirkt sich daher der Pilzbefall bei entsprechendem Herbstwetter sehr qualitätshebend für den Most aus.

¹⁾ Müller-Thurgau. Die Edelfäule der Trauben. Landw. Jahrbücher, Bd. 17, S. 83—160, 1888.

Der biochemische Einfluß von *Botrytis* erstreckt sich weiterhin auch auf die Stickstoffverbindungen der befallenen Traubenbeere. Er reißt einen großen Teil der gelösten Stickstoffverbindungen an sich, baut damit sein Zelleiweiß auf und bewirkt dadurch eine Transformation des löslichen Stickstoffs in unlösliche Verbindungen innerhalb der Traubenbeere.

An Hand von Zahlen aus der Arbeit von Müller-Thurgau ist dieser Vorgang schön ersichtlich.

Der Gehalt an löslichen N-Verbindungen fiel in 100 Rieslingsbeeren 1886 vom 1. November bis 10. Dezember nach *Botrytis*-Befall von 114 mg auf 58 mg und in edelfaulen Rosinen auf 27 mg. Gleichzeitig war der Gehalt an unlöslichen N-Verbindungen von 94 mg auf 117 mg und in Rosinen auf 118 mg gestiegen. Bei Ausschaltung der Samen und Untersuchung lediglich des Beerenfleisches, das ja den Most liefert, tritt die Veränderung des N-Gehaltes durch den *Botrytis*-Befall noch klarer in Erscheinung.

Bei 100 g Beerenfleisch fiel in der gleichen Zeitspanne der Gehalt an löslichem Stickstoff von 102 auf 54 mg und stieg der Gehalt an unlöslichem Stickstoff von 84 auf 237 mg. Müller-Thurgau hat nicht allein die Auswirkungen des Pilzes auf die chemische Zusammensetzung naturbefallener Traubenbeeren studiert, sondern den Pilz auch auf Traubenmost gezogen und die hier zu beobachtenden Einwirkungen zahlenmäßig festgestellt. Die Ergebnisse sind in der Abb. 57 dargestellt. In 27 Tagen hatte *Botrytis cinerea* in einem Most von 17,2% Zucker-, 13,4‰ Gesamtsäure- und 575 mg/L N-Gehalt verbraucht:

34,6% des Zuckergehaltes

94,6% der Gesamtsäure

82,8% des N-Gehaltes.

Die Verminderung des Gehaltes an löslichen N-Verbindungen hat natürlich für die nachfolgende Gärung und auf die Gesamtentwicklung der Moste aus edelfaulen Trauben eine spürbare Wirkung. Die Moste gären nicht allein wegen des höheren Zuckergehaltes, sondern auch wegen des niedrigen Gehaltes leicht assimilierbarer N-Verbindungen langsamer und geben einen niedrigeren Endvergärungsgrad.

Der Endvergärungsgrad ganz großer Trockenbeerenauslesen des Rheingaus und der Pfalz bewegte sich oft bei Zuckerresten von 100–130 g nur zwischen 8,2–9,5 Gewichts% Alkohol.

Die Stickstoffarmut der Moste edelfauler Trauben ist auch im anfallenden Hefedepot ersichtlich. So bekam Müller-Thurgau in 100 ccm Most gesunder Trauben 229 mg Hefetrockensubstanz, in nur wenig zuckerreicherem Most *botrytis*-fauler Trauben dagegen nur 155 mg. Der Einfluß von *Botrytis cinerea* erstreckt sich sodann noch auf die Traubenbukette, die er zerstört. Die Weine aus edelfaulen Rieslingtrauben haben daher kein Rieslingsbukett mehr, sondern ein eigenartiges, kaum definierbares „Edelfäulebukett“. Ein Vergleich mit Sherry (wie Müller-Thurgau ihn seinerzeit gebrauchte) ist m. E. nicht am Platze, da die Sherrybukette und Aromastoffe ganz anderen Ursprungs sind. Südweinartige Bukett- und Aromastoffe können in Trockenbeerenausleseweinen dadurch entstehen, daß infolge der langsamen Gärung über dem Weinspiegel keine reine CO₂-Atmosphäre, sondern ein Gemisch aus CO₂ und Luft ist. Die am Flüssigkeitsrand an den Faßwänden klebende Hefe lebt dort im

oxydativen Stadium und bewirkt die für dieses Stadium charakteristischen biochemischen Umsetzungen (siehe Seite 59—63).

Pilze geben spezifische Stoffe an das Nährsubstrat ab, die man Mycoine nennt. Einige, wie Penicillin, sind wegen ihrer starken antibiotischen Wirkung gegenüber gewissen Bakterienarten medizinisch sehr bedeutsam geworden. Auch *Botrytis cinerea* muß ein Mycoin abgeben. Es wurden von uns von verschiedenen Schimmelpilzen wäßrige und alkoholische Extrakte hergestellt und diese in geringen Mengen Gäransätzen mit *Zygosaccharomyces variabilis* zugesetzt. Der *Botrytis*-Extrakt hatte auf den zeitlichen Verlauf der Gärung und die Alkoholausbeute keinerlei Einfluß. Dagegen wurde durch den Zusatz von *Botrytis*-Extrakt die Hefezellenausbeute (genau wie durch *Penicillium*-Extrakt) auf die Hälfte herabgedrückt.

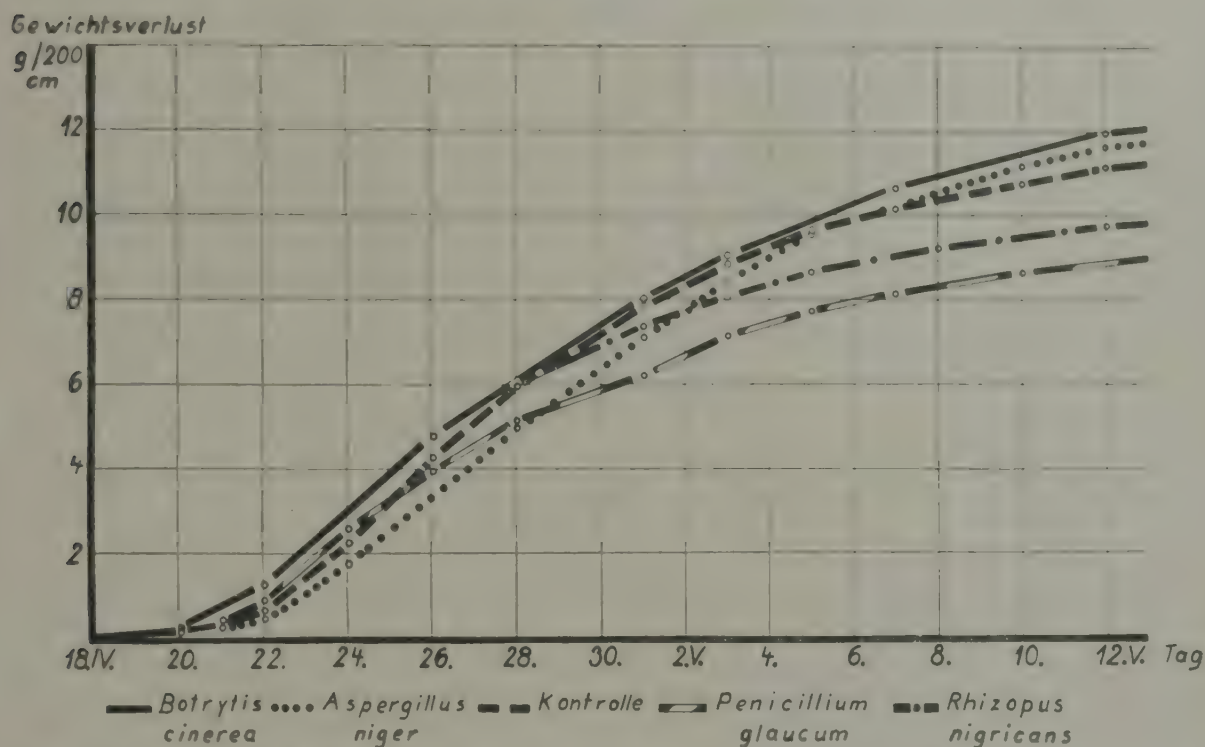


Abb. 58. Der Einfluß wäßriger Myzelauszüge verschiedener Schimmelpilze auf die Gärungstätigkeit der Hefe. Der Extrakt von *Botrytis cinerea* förderte, derjenige von *Penicillium* und *Rhizopus* hemmte die Hefe.

Rentschler-Wädenswil hat 1946 gezeigt, daß *Botrytis cinerea* in erheblichem Maße ein Polyphenole oxydierendes Enzym, eine Polyphenolase, produziert. Dieses Enzym überträgt auf die in der Traubenbeere und im Wein in Form von Farb- und Gerbstoffen vorkommenden Polyphenole Sauerstoff, wodurch die Weine zum Braunwerden neigen. Es ist in der Praxis bekannt, daß Edelbeeren auslesen stärker geschwefelt werden müssen, weil sie leicht hochfarbig oder braun werden.

Laborde hat nachgewiesen, daß *Botrytis cinerea* eine besondere Diastase, die „Cytase“, produziert, mittels derer er die Zellulose der lebenden Zellen verzuckert, wobei ein den Dextranen ($C_6H_{10}O_5$) • n analoger Stoff entsteht, der den Extraktgehalt der Weine erhöht und mit Alkohol ausfällbar ist. Nach Ribéreau-Gayon können die Dextrane — welche nach Laborde auch von anderen Mikroorganismen, z. B. Milchsäurebakterien des Weines, erzeugt werden können — im Wein die Rolle von Schutzkolloiden spielen.

b) *Cladosporium cellare* Pers. (Schanderl).

Dieser Pilz wurde früher unter der Bezeichnung *Rhacodium cellare* Persoon (= Keller-Fetzenpilz), sozusagen in der systematischen Rumpelkammer, nämlich bei den Pilzen mit sterilen, keine Fruktifikationsorgane bildenden Myzelien, den *Fungi imperfecti*, geführt. Nachdem aber Guéguen 1906 und Schanderl 1936 nachwiesen, daß er reichverzweigte, sehr zerbrechliche Konidienstände ganz nach der Bauart der Imperfectengattung *Cladosporium* bildet, ist er im System weiter nach vorne gerückt. Es besteht jedoch der Verdacht, daß dieser Pilz, wie sein Vetter *Cl. herbarum*, ein Askomyzet der 5. Ordnung der *Euscomycetes*, der *Myriangiales* (= Vielbehälter) ist. Diesbezügliche Untersuchungen wären angebracht.

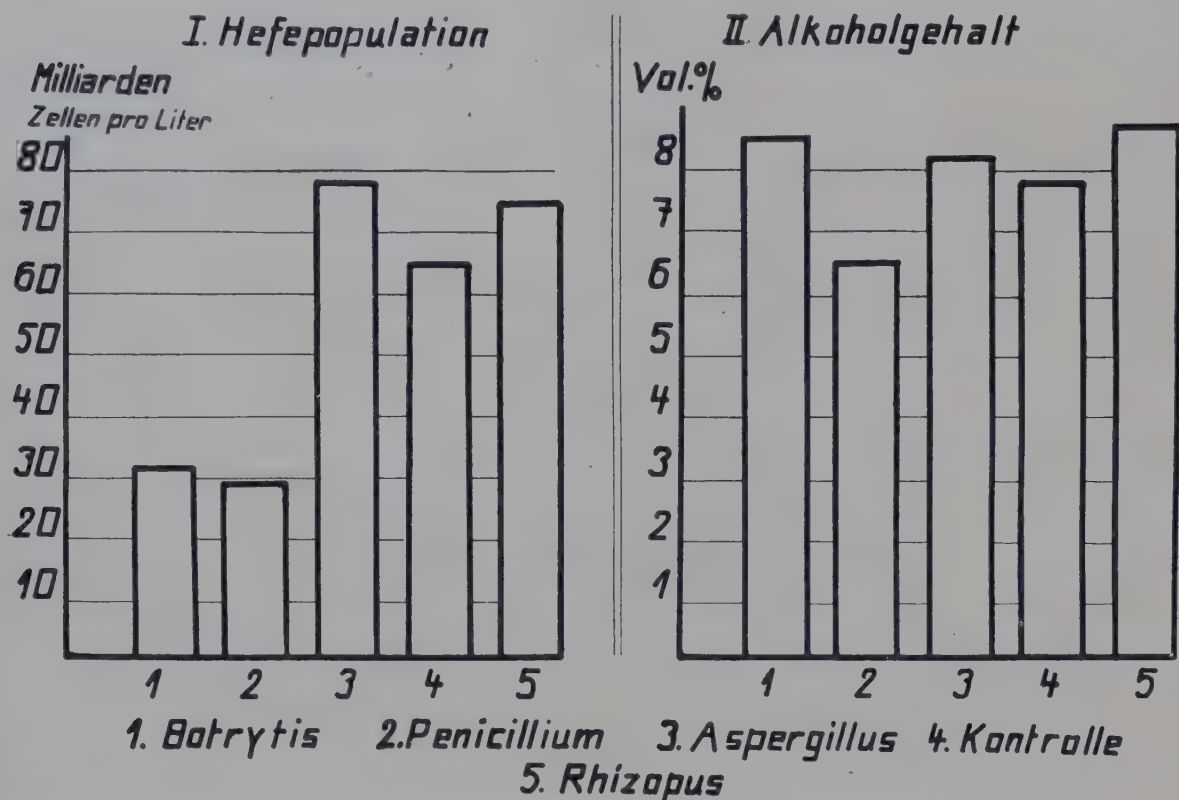


Abb. 59. Der Einfluß von Pilzextrakten auf die Zellen- und Alkoholbildung der Weinhefe.

Morphologie. Myzel lebt saprophytisch, Hyphen sehr dünn (2,2 bis 2,7 μ dick). Myzel auf Agar und Gelatine in der Jugend weiß, dann tief schwarz werdend. Lufthyphen außen mit feinen Granulationen besetzt, die wahrscheinlich aus einem fett- oder wachsartigen Stoff bestehen. Sehr zahlreiche Fetteinschlüsse in Form von Kugeln, daher Luftmyzel wie Zunder entzündbar. Konidien länglich, ei- oder birnförmig, meist einzellig, aber auch zweizellig, wie die Lufthyphen an der Oberfläche feinkörnig gerauht. Keimung der Konidien an den polaren Enden nach 2 Seiten. In der Kultur keine Sklerotien bisher beobachtet, dagegen sind schwarze Hyphenknäuel in natürlichen Vegetationen in den Weinkellern häufig zu finden.

¹⁾ Zitiert nach Ribéreau-Gayon. *Traité d'Oenologie*. Paris et Sièges, 1947.

Ökologie und Physiologie. Der Weinkellerschimmel verfügt über einen enormen Enzymreichtum, wodurch er alle möglichen organischen Substrate ausnutzen kann. Er verfügt über proteolytische Enzyme und interessanterweise auch über Chitinase, wodurch er Larvenhäute und Leichen von Insekten auflösen kann. Im Notfalle vermag er auch Zellulose als Kohlenstoffquelle zu benutzen. In bezug auf Enzymreichtum steht er *Aspergillus* kaum nach. Was ihn aber vor allen anderen Schimmelpilzen auszeichnet, ist seine Fähig-

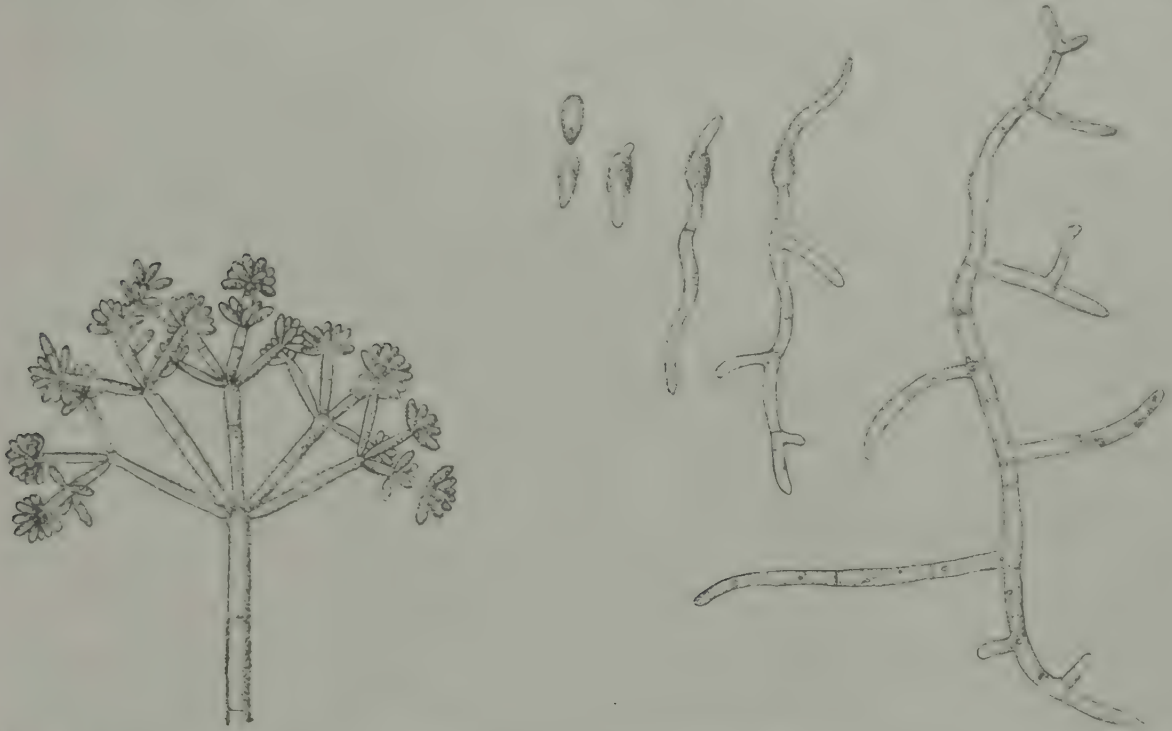
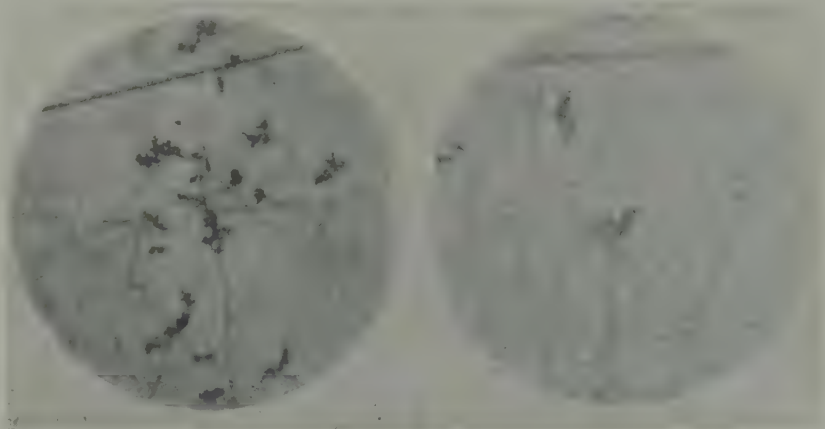


Abb. 60. Links: Konidienstand von *Cladosporium cellare*. Rechts: Keimung einer Konidiespore und Myzelbildung.

keit, Standorte zu besiedeln, welche alle anderen Schimmelpilze nicht einzunehmen verstehen. Er kommt in Weinkellern nicht nur an den Mauerwänden und auf Flaschenkorken vor, sondern bildet an eisernen Gestellen, Absperrgittern, Lichtleitungsdrähten, Porzellan und Glasschirmen prachtvoll moosgrüne Vegetationen.

Abb. 61. Lupenaufnahmen der sehr zerbrechlichen Konidienstände des Kellerschimmels. Vergr. etwa 100fach.



Diese ungewöhnlichen Standorte kann *Cladosporium cellare* nur einnehmen dank seiner Fähigkeit, Moleküle dampfförmiger, organischer und anorganischer Verbindungen der Weinkeller-

luft an seiner Hyphenoberfläche zur Mikrokokondensation zu bringen.

Bei der Gärung, bei den üblichen Abstichen und sonstigen Manipulationen mit dem Wein, gelangen in die Kellerluft flüchtige Bukettstoffe der Ester- und Aldehydklasse, Dämpfe von Alkohol und flüchtigen Säuren, von Schwefelwasserstoff und Ammoniak. Schanderl¹⁾ wies 1936 mit einer speziellen Versuchsanordnung (siehe Abb. 62) nach, daß der Kellerschimmel mit Alkohol-, Ester- und flüchtigen Säuredämpfen, ja sogar mit Formalin-,

Thymol- und Toluol-Dämpfen seinen Kohlenstoffbedarf decken kann, und 1939 wies E. Kiene²⁾ nach, daß er ebenso seinen Schwefel- und Stickstoffbedarf aus Dämpfen von Schwefelkohlenstoff, Schwefelwasserstoff, schwefliger Säure, Äthylmercaptan, Pyridin, Piperidin usw. zu decken vermag. 1940 wies Schanderl³⁾ nach, daß er auch zur Assimilation elementaren Luftstickstoffs befähigt sein muß. Diese ungewöhnliche physiologische Leistungsfähigkeit des Pilzes erlaubt ihm im Weinkeller buchstäblich „von der Luft“ zu leben.



Abb. 62. *Cladosporium cellare* links mit Dämpfen von Äthylalkohol, rechts mit „Thermostatenluft“, in der Hefekulturen goren, ernährt.

Es galt nun aber auch die verschiedenen Ansichten der Kellerwirte über Schädlichkeit und Unschädlichkeit zu klären; denn auf der einen Seite standen Behauptungen wie diejenige Wortmanns in seinen „Wissenschaftliche Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft“, auf der anderen Seite die Ansicht seiner Harmlosigkeit, ja sogar seiner Nützlichkeit im Weinkeller. J. Wortmann⁴⁾ hatte seinerzeit geschrieben und es ist oft auf diese Stelle Bezug genommen worden (S. 72): „Gar mancher alte, gute Wein ist durch die Wirkung des *Rhacodium cellare* leer und matt gemacht oder geschmacklich herabgesetzt worden.“ Wortmann hatte vor allem den Fall im Auge, den man häufig bei alten Flaschen sieht, die an der Kopfseite mit einem dichten Überzug eines Myzelpolsters des Kellerschimmels überzogen sind. Wortmann behauptete, der Pilz würde durch den Flaschenkork wachsen und ihm einen typischen Schimmelgeschmack verleihen.

¹⁾ Schanderl, H. Untersuchungen über die systematische Stellung und die Physiologie des Kellerschimmels *Rhacodium cellare* Persoon. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 94, S. 112—127, 1936.

²⁾ Kiene, E. Über die Ernährung des Kellerschimmels mit verschiedenen gasförmigen Verbindungen und zur Frage seiner Duldung im Weinkeller. Zeitschr. f. Vorratspflege und Lebensmittelforschung, Bd. II, S. 698—706, 1939.

³⁾ Schanderl, H. Über die Assimilation des elementaren Stickstoffs der Luft durch hautbildende Hefen und durch *Cladosporium cellare*. Zentralbl. f. Bakt., Bd. II, S. 401—408, 1940.

⁴⁾ Wortmann, J. Die wissenschaftlichen Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft. Parey, Berlin, S. 72, 1905.

Diese Frage hat Schanderl 1936 dadurch zu klären versucht, daß er den Kellerschimmel auf Traubenmost impfte und ihn dort 4–8 Monate wachsen ließ. Der Most wurde sodann teils dekantiert, teils von dem Myzel abfiltriert und zusammen mit geübten Weinkostern auf die Anwesenheit eines Schimmelgeruchs oder -geschmacks geprüft. Zum Vergleich wurde ein nur kurze Zeit mit *Penicillium glaucum* bewachsener Most herangezogen. Keiner der Koster fand an dem vom Kellerschimmel bewachsenen Traubenmost eine Spur eines muffigen Schimmelgeruchs oder -geschmacks. Nicht alle Schimmelpilze entwickeln muffige Schimmelgeruchs- oder Geschmacksstoffe. Dieser ist hauptsächlich für *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten charakteristisch, Mucor-schimmelpilze entwickeln sogar obstige, angenehme Geruchsstoffe und die *Cladosporium*-Arten verhalten sich ganz neutral, d. h. sie prägen dem Substrat überhaupt keinen Eigengeruch auf.

Wortmann hat seine Behauptung nicht experimentell geprüft, sondern lediglich auf Grund des Augenscheines konstruiert. Außerdem hat er nicht berücksichtigt, daß der Kellerschimmel überhaupt keinen Wein anzugreifen vermag, da ihm die Alkoholkonzentration zu hoch ist. Er verträgt Alkoholkonzentrationen über 2 Vol. % nicht mehr, seine Hyphen wer-



Abb. 63. Rechts mit *Cladosporium cellare* bewachsene Weinflaschen. Links: Reinkulturen mit Dämpfen verschiedener, flüchtiger organischer Verbindungen ernährt.

den ab 1,5 Vol. % schon gehemmt und ab 2 Vol. % Alkoholgehalt bereits getötet.

Die Wortmannsche Behauptung von der Weinschädlichkeit des Kellerschimmels hielt also einer experimentellen Nachprüfung nicht stand.

Die physiologischen Versuche hatten schon ergeben, daß die alten Praktiker, welche behaupteten, daß der Kellerschimmel die Luft „reinigen“ würde, recht hatten. Viele Praktiker behaupten darüber hinaus, daß er die Luftfeuchtigkeit regulieren und das richtige Weinkellerklima erzeugen würde.

Kiene hat 1939 nachgewiesen, daß der Weinkellerschimmel zum Wachstum eine relative Luftfeuchtigkeit von 85 % und zur Sporenbildung eine solche von 89 % braucht. Sein Wachstum in einem Weinkeller ist also ein biologischer

Indikator für eine relative Luftfeuchtigkeit von über 85 %. Bildet sich dagegen an den Kellerwänden dauernd Kondenswasser oder geben sie dauernd tropfbar flüssiges Wasser ab, so vermag er sie nicht zu besiedeln, weil er hier der Konkurrenz von Kolonien bildenden Schleimbakterien unterliegt. Höchstens, daß er an solchen Stellen eine Symbiose mit Schleimhefen und Schleimbakterien eingeht, wodurch eigenartige, schwarze Stalaktiten ähnliche Gebilde, wie in Tropfsteinhöhlen, entstehen (siehe Abb. 65).

Zur Mikroflora der Kellerwände gehören neben den moosgrünen Vegetationen von *Cladosporium cellare* auch gallertige Kolonien des Froschlaichbakteriums *Leuconostoc mesenteroides*, das ebenfalls durch Mikrocondensation

flüchtiger organischer Verbindungen sich ernährt. In den Schleimhüllen dieses Bakteriums siedeln sich auch Kahl- und Torulahefen an, schließlich kann sich auch Myzel des Kellerschimmels an dieser Lebensgemeinschaft beteiligen. Letzterer gibt dann dem Gebilde ein schwarzes Aussehen, während bei starker Beteiligung von *Rhodotorula* (Rosahefen) rötliche oder gelbliche wie Stalaktiten oder Himbeeren aussehende Gebilde an den nassen Kellerwänden entstehen.



Abb. 64. Ein von *Cladosporium cellare* bewachsenes, eisernes Absperrgitter in einer Schaumweinkellerei.

Bei der kärglichen Ernährung nur durch Kondensation von in der Kellerluft in Molekülgröße vorhandenen organischen Verbindungen ist es verständlich, daß ausgedehnte, dicke Vegetationen sowohl des Kellerschimmels als auch stalaktitenähnliche Lebensgemeinschaften von Hefen und Bakterien lange Wachstumszeiten brauchen. Daher findet man die schönste und üppigste Entwicklung dieser Weinkeller-Mikroflora nur in alten oder sehr alten Weinkellern, die ohne Unterbrechung Wein enthielten. Diese Keller erhalten durch ihre Mikroflora erst ihr altherwürdiges, stimmungsvolles Gesicht. Da alle diese Mikropflanzen dem Wein nicht schaden können, wäre es eine Barbarei, lediglich aus Sauberkeitsfanatismus eine solche Flora durch Abreißen und Tünchen zu entfernen. Etwas anderes ist es

in Süßweinskellern, wo derartige Pilzvegetationen an den Kellerwänden tatsächlich eine Infektionsgefahr darstellen können, wenn in dem betreffenden Keller Ab- oder Umfüllungen vorgenommen werden sollen. Dienen sie dagegen lediglich zum Lagern von Süßmost in Drucktanks oder Flaschen, so würden Kellerschimmel- und *Leuconostoc*-Vegetationen auch in diesem Falle keine Gefahr darstellen.

c) *Geotrichum lactis* (= *Oidium lactis* = *Oospora lactis*)

Dieser als „Milchschiimmel“ bekannte Pilz muß hier eingefügt werden, weil er ein echtes Myzel zu bilden vermag. Früher ist er häufig bei den anaskosporogenen Hefen aufgeführt worden, weil er seine Hyphen in hefeähnliche kurze Glieder, sog. „Arthrosporen“ zerfallen lassen kann (siehe Abb. 66). — Der Milchschiimmel kann in Winzerbetrieben mit eigener



Abb. 65. Himbeeren und Stalaktiten ähnliche, gallertige Gebilde an den Wänden eines alten Weinkellers, die aus Lebensgemeinschaften von Schleimbakterien, Hefen und zuweilen auch des Kellerschimmels bestehen.

Milchviehhaltung Traubenmoste infizieren. Er bildet auf Traubenmost eine Rahmdecke, gärt ihn leicht an, wird aber sehr schnell von den echten Hefen verdrängt, da er schon von Alkoholkonzentrationen über 1 Vol. % gehemmt und verdrängt wird.

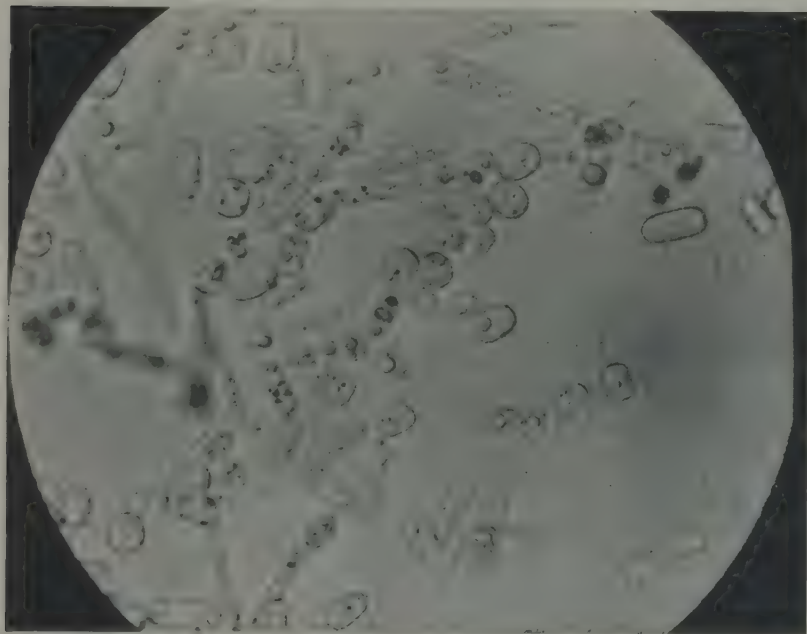


Abb. 66.
Geotrichum lactis
in Traubenmost
gewachsen.

4. Zu den *Basidiomycetes* (= Ständerpilze) gehörende Fadenpilze

Zuweilen treten in den Weinkellern gefährliche holzerstörende Pilze auf. An Weinfässern, an hölzernen Unterlagen, untergekeilten hölzernen Faßschließen, an hölzernen Bodeneinlagen von Flaschenschränken, an Stroh-
hüllen und Einwickelpapier können der echte Hausschwamm (*Merulius domesticus* Falk) und seine nahen Verwandten, der Waldhausschwamm (*Merulius silvester*), der Sklerotienhausschwamm (*M. sclerotiorum*) und der weiße Porenhausschwamm (*Poria vaporea* Persoon) ihr Zerstörungswerk vollbringen.

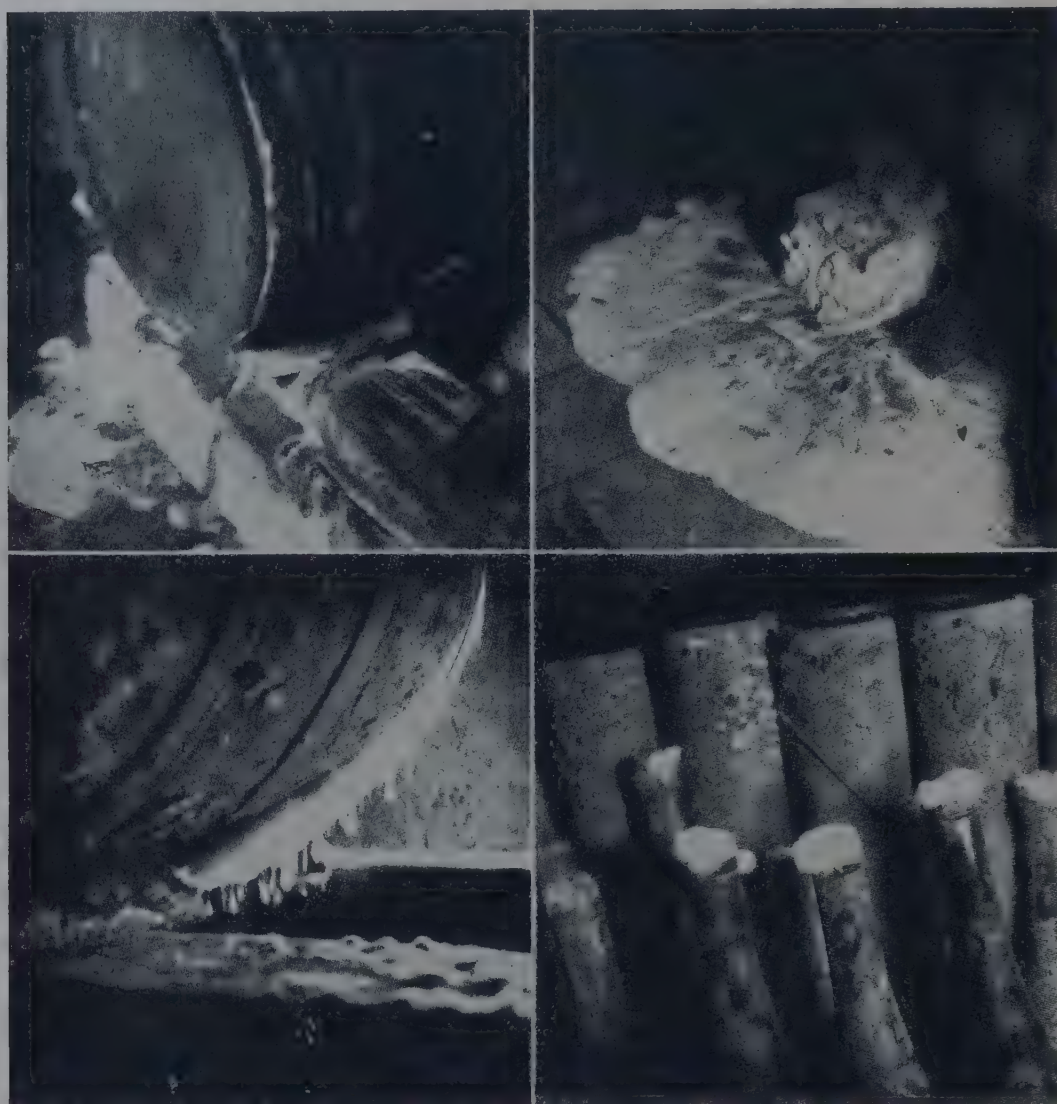


Abb. 67. Der echte Hausschwamm *Merulius domesticus* Falk auf Faßunterlagen, Faßschließen, Fässern und Flaschenkorken. (Nach F. Kallenbach.)

Diese holzerstörenden Pilze gehören zur 8. Basidiomycetenordnung der *Polyporales* = Löcher- oder Röhrenpilze. Die primitivere Stellung der Familie der *Meruliaceae* ist durch einfache, bis $\frac{1}{2}$ m große, flach liegende, krustenförmige, in unregelmäßige Gruben und Gänge gegliederte Fruchtkörper gekennzeichnet, während die Familie der *Polyporaceae*, der eigentlichen Löcherpilze, schon höher differenzierte, konsolenartige, mit wabigen und röhrenförmigen Behältern ausgestattete Fruchtkörper bildet. In den Gruben

und Gängen des Fruchtkörpers von *Merulius* oder in Röhren der Fruchtkörper von *Poria* werden die Basidien (griech. basidion = Ständerchen) gebildet. Während bei den Askomyceten die Sporen in einem Schlauch entstehen und dort verbleiben, wandern bei den Basidiomyceten die Sporenkerne durch enge Ausstülpungen nach außen und sitzen der Basidienhyphie an kurzen Stielchen auf. Die Basidie mit den 4 Sporen erinnert in ihrer Gestalt an einen kleinen Kleiderständer.

Die Abbildung 67 zeigt Fälle, in denen, ausgehend von Faßschließen und hölzernen Lagern, Weinfässer von weißen Myzelsträngen des Hausschwammes befallen worden sind. In Abbildung 67 hängen tropfsteinartige Schwammgebilde vom Faßrand herunter. Franz Kallenbach, der vormalige Leiter der Landesstelle für Pilz- und Hausschwammberatung in Darmstadt und Deutschlands bester Spezialist für die Bekämpfung des Hausschwammes, berichtet in der Zeitschrift der Deutschen Mykologischen Gesellschaft, Jahrgang 1939, über einen Fall, in dem der Hausschwamm in einem Keller Weinfässer im Werte von 100000 RM zerstört hatte. Von solchen Befallsstellen aus vermögen die *Merulius*-Arten weitweg auszustrahlen, durch Mauerritzen sogar in andere Kellerabteilungen, ja sogar in die darüberstehenden Häuser und Gebäudeteile einzudringen, um dort, wenn sie auf Holz treffen, erneut einen Nahrungsherd zu finden und ihr gefährliches Zerstörungswerk fortzusetzen. Wenn es ein fremdes Haus ist, das dadurch geschädigt wird, kann sogar der Eigentümer der nachgewiesenen Ausgangsstelle für den ganzen Schaden haftbar gemacht werden.

Der Hausschwamm benötigt zu seiner Existenz einen bestimmten Feuchtigkeitsgehalt des Substrates und seiner umgebenden Luft. Letztere muß mindestens 95% relative Dampfspannung aufweisen. Der Pilz kann sich aber auch das nötige Wasser von weiter abseits gelegenen Stellen beziehen und leitet in speziellen weitlumigen Myzelsträngen, welche die Funktion von Wasserleitungsbahnen übernehmen, dorthin, wo weniger vorhanden ist. So können auch die eigenartigen pfannkuchenförmigen Fruchtkörper dieses Pilzes, die nur im Licht wachsen, weitab vom eigentlichen Befallsherd entstehen. Die Sporen, die in grubchenartigen Vertiefungen entstehen, bedingen, daß die Fruchtkörper wie mit Zimt bestreut aussehen. Selbst nach Zerstörung der Fruchtkörper kann der Hausschwamm immer wieder wachsen, sofern der eigentliche Befallsherd nicht entdeckt ist.

Die *Merulius*-Arten scheiden eigenartige, unangenehm riechende Duftstoffe und tropfbar flüssiges Wasser ab. Daher hat der erste Namengeber dem Hausschwamm die Artbezeichnung „tränennd“ (lacrimans) gegeben.

In chemisch-physiologischer Hinsicht sind die holzzerstörenden Pilze insofern interessant, als die einen hauptsächlich nur die Zellulose, die anderen nur Lignin (den eigentlichen Holzstoff) angreifen und die Zellulose übriglassen. Im letzteren Falle bleibt vom Holz eine weißliche, weiche Masse zurück, und man spricht von „Weißfäule“. So lassen mehrere *Polyporus*-Arten, die nicht so gefährlich in Haus und Keller sind, den Holzstoff, das Lignin, zurück. Der Hausschwamm dagegen verzehrt zunächst die Zellulose und hinterläßt das Lignin zwar nicht unverändert, sondern zum Teil bereits in braune Huminsubstanzen umgesetzt, daher der „Name „Braunfäule“.

Als praktische Schlußfolgerung können wir aus diesem Kapitel folgendes ziehen:

1. Wir müssen im Weinkeller streng zwischen harmlosen und gefährlichen Pilzen unterscheiden. Zu den ersteren gehört der eigentliche Kellerschimmel *Cladosporium cellare* Persoon (Schanderl.) Zu den letzteren gehören für den Kellerwirt alle holzerstörenden Pilze.
2. Das richtige Weinkellerklima Mitteleuropas weist eine relative Dampfspannung von rund 90—95% auf. Bei diesem Feuchtigkeitsgehalt der Luft würden sich ohne Zutun des Menschen automatisch holzerstörende Pilze auf allen Gegenständen, welche aus Holz sind, breit machen. Daher ist eine ständige Wartung aller Holzgegenstände im Weinkeller naturnotwendig.
3. Andererseits können wir aber auch im Weinkeller die Verwendung von Holz tunlichst vermeiden. Faßunterlagen müssen nicht aus Holz sein, und auch in Flaschenschränken müssen keine hölzernen Bodeneinlagen sein.

Beide können aus anderem Material hergestellt werden, welches Pilzen keine Nahrung bietet. Schließlich können sogar Faßschließen aus Steinmaterial hergestellt werden.

III. Experimenteller Teil

Zum Studium der Weinmikrobiologie genügt nicht allein das Mikroskopieren und Kennenlernen der Gestalt und Größe der Mikroorganismen, sondern es müssen die ungemein verschiedenen Reaktionsweisen der Mikroben auf die physikalischen und chemischen Faktoren, die ihnen jeweils in den verschiedenen Mosten, Jahrgängen und Kellern geboten werden, möglichst zahlenmäßig erfaßt werden. Dazu sind Experimente notwendig. Dabei kann man den einzelnen Faktor variieren und auf ein oder mehrere und verschiedene Gärungsorganismen einwirken lassen.

Die Reaktionsweise des Mikroorganismus kann man am Verlauf und an der Intensität der Gärung, welche man durch Wägungen feststellt, oder an der Zahl der Zellindividuen, oder der Menge und Art der Stoffwechselprodukte erkennen. Da sich derartige Versuche meist über Wochen oder Monate erstrecken und man die vielen durch Wägung der Gewichtsverluste ermittelten Zahlen nicht gut überblicken kann, stellt man am Ende eines Versuches das Zahlenmaterial graphisch dar. Dadurch lassen sich Vorgänge, die sich über eine lange Zeit erstrecken, gut überblicken und mehrere Versuchsreihen miteinander mühelos vergleichen. Außerdem kann man am Ende eines Versuches z. B. die Alkoholausbeute, Entstehen oder Verschwinden von Säuren, Glyzerin und anderen Stoffen, sowie die Veränderungen der pH- und rH-Zahl während der Gärung bestimmen. Auf diese Weise ergeben sich erst gesicherte Einblicke, Schlußfolgerungen und Nutzanwendungen für die Mikrobiologie in der praktischen Kellerwirtschaft. Derartige Experimente schufen die wissenschaftliche Grundlage für die Technologie des Weines, bestätigten alte Erfahrungen, korrigierten alte Irrtümer und zeigten zudem vielfach neue Wege.

Den Studierenden der Weinkellerwirtschaft erleichtern derartige Experimente das Eindringen in die Mikrobiologie des Weines außerordentlich und

tragen sehr zum tieferen Verständnis dieser und jener Technik und dieser und jener Methode beim Ausbau und bei der Behandlung der verschiedenen Weine bei. Man kann die Faktoren, welche für die Stoffwechselvorgänge, vor allem der Weinhefen, von Bedeutung sind, nach folgenden Gesichtspunkten einteilen:

A. Physikalische Faktoren:

1. Temperatur (Wärme — Kälte)
2. Osmotischer Gegendruck
3. Die innere Oberfläche des Gärsubstrates.

B. Chemische Faktoren:

1. Sauerstoff- bzw. SO_2 -Gehalt
2. Stickstoffgehalt
3. Eisen- und Kupfergehalt
4. Gerbstoffgehalt
5. Essigsäuregehalt
6. CO_2 -Gehalt.

C. Biologische Faktoren:

1. Spontangärung, Reingärung
2. Wettbewerb der Gattungen und Arten untereinander, gegenseitige Beeinflussung
3. Gattungs-, Art- und Rasseeigenschaften von Hefen.

A. Physikalische Faktoren bei Gärungen

1. Der Temperaturfaktor

Den Temperaturfaktor müssen wir bei der Betrachtung seines Einflusses auf die Weingärung in 2 Abschnitte oder Unterfaktoren zerlegen, das ist die Angärungstemperatur und die Temperatur, welche sich bei der Hauptgärung durch das Freiwerden von Energie bei der Gärungsarbeit der Hefe einstellt.

Die Optimaltemperatur der Weinhefen allgemein, das ist die Temperatur, bei der Vermehrung und Stoffwechselvorgänge sich am flottesten abwickeln, liegt zwischen $22-27^\circ \text{C}$. In unseren geographischen Breiten liegt die der Weinhefe im Keller zur Zeit der Weinlese zunächst gebotene Temperatur weit unterhalb des Optimalbereichs der Weinhefen. In südlichen Breiten dagegen herrscht zur Zeit der Weinlese einerseits eine höhere Temperatur im Freien, wodurch die Trauben schon wärmer in die Kelter gelangen als bei uns, andererseits sind die dortigen Weinkeller nicht so tief in die Erde versenkt als bei uns. Die Folge ist, daß die Ausgangstemperatur für die Mostgärung in südlichen Breiten entweder innerhalb des Optimalbereichs der Hefe oder sogar darüber liegt.

Aus den wärmegeographischen Unterschieden ergeben sich kellertechnisch zwei ganz gegensätzliche Maßnahmen: in nördlichen Breiten wendet man künstliche Wärme an, um die Angärungstemperatur näher an den Optimalbereich der Weinhefe heranzubringen, in südlichen dagegen Kälte, um die Gärungstemperaturen aus dem

gefährlichen „Versiedebereich“ in den optimalen Temperaturbereich der Weinhefen herunterzudrücken.

In nördlichen Weinbaugegenden schuf man daher die Einrichtung von heizbaren Gärkellern, in denen die Weine lediglich während der Gärung verbleiben, nach der Gärung kommen sie in die kühleren Lagerkeller. Die Gärkeller liegen meist auch nicht so tief in der Erde. Geheizt wird in der Regel nur so viel, daß die Raumtemperatur auf 18°C , höchstens 20°C , erhöht wird. Höher ging man nicht, weil man allgemein erkannte, daß eine zu stürmische Gärung für die Erhaltung der feinen Traubenbukette, vor allem der Sorte Riesling, nicht gut ist.

Die Hefebiologen hatten nun in der Neuzeit gefunden, daß in der Natur in jeder Population einer Hefeart Individuen zu finden sind, welche in bezug auf Wärme niedrigere Ansprüche stellen als die Allgemeinheit und Mehrheit der Population. Diese Individuen lassen sich experimentell herausfinden (selektionieren) und daraus eigene „Kaltgärassen“ vermehren.

Selektion einer Kaltgärhefe bei 4°C .

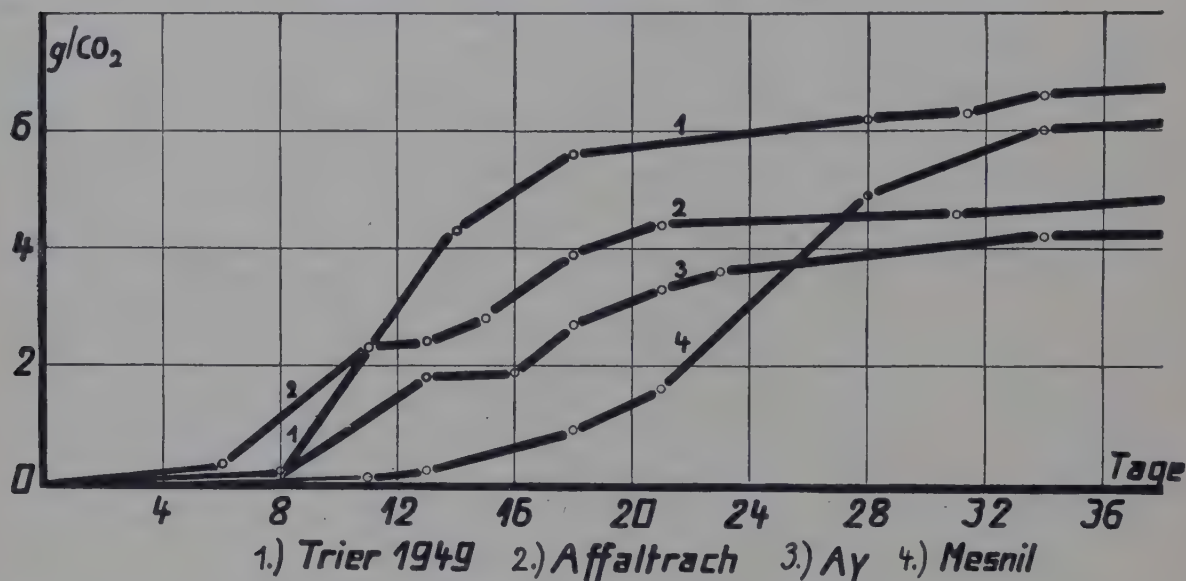


Abb. 68. Als ausgesprochene Kaltgärhefe erwies sich hier nur Trier 1949.

Dadurch wurde der Praxis der Weinkellerwirtschaft neben der Möglichkeit der künstlichen Temperaturerhöhung zur Angärung noch eine zweite Möglichkeit geboten, nämlich ohne Heizungsaufwand bei den in Deutschland üblichen Weinkellertemperaturen von $10-14^{\circ}\text{C}$ die Mostgärung durchzuführen.

Die Kaltgärung bietet neben dem wirtschaftlichen Vorteil der Ersparnis von Heizeinrichtungen und Heizmaterial jedoch noch weitere, rein önologische Vorteile.

1. Je stürmischer die Gärung verläuft, um so mehr Bukettstoffe werden mit den Gärgasen aus dem Wein ausgetrieben. Anstatt dem Wein erhalten zu bleiben, erfüllen sie nutzlos die Luft des Gärtraumes.
2. Durch den langsamen Verlauf der Gärung werden nicht auf einmal so große Wärmemengen entbunden. Die Eigenerwärmung des Gärgutes ist

nicht so hoch, weil die Wärmeerzeugung der Hefe auf eine längere Zeitstrecke verteilt wird.

3. Höhere Gärtemperaturen fördern nicht nur die Entwicklung von Hefen, sondern vor allem von Bakterien, welche allgemein wärmeliebend sind. Bei einer Kaltgärung können sich weinschädliche Bakterien lange nicht in dem Maße vermehren als bei Warmgärung.
4. Da die Löslichkeit der Kohlensäure im Wein mit sinkender Temperatur zunimmt, bleibt den kaltvergorenen Weinen auch mehr Gärungskohlensäure erhalten. Diese ist für Weine um so wichtiger, je geringer sie im Alkohol- oder Säuregehalt sind. Genau wie beim Bier mit seinem niedrigen Alkoholgehalt der CO_2 -Gehalt von entscheidender Bedeutung ist, so ist ein höherer CO_2 -Gehalt für alkoholärmere Weine, z. B. auch Natur-Apfelweine, von qualitätserhöhender Bedeutung. Aber nicht allein die Vollmundigkeit des Weines wird dadurch erhöht, sondern auch sein Lebensalter. Kaltvergorener Wein bleibt einerseits dadurch länger jugendlich und frisch, und andererseits durch den Umstand, daß die Alterungsvorgänge, das sind in der Hauptsache Oxydationsvorgänge, bei höheren Temperaturen schneller und bei niedrigen langsamer verlaufen.

Die Vorteile der Kaltgärung¹⁾ werden von der Allgemeinheit der Winzer und Weinhersteller noch lange nicht in dem Maße ausgenützt, wie sie es verdienen. Weinbaugebiete mit kleinen, leichteren und vor allem säureärmeren Weinen besäßen mit der Anwendung der Kaltgärung eine Möglichkeit der Qualitätshebung ihrer Erzeugnisse. Selbst in Qualitätsweinbaugebieten böte sie in geringeren Jahren eine Möglichkeit der Qualitätssteigerung, wie wir dies im Rheingau zweimal, 1935 und 1942 experimentell erproben.

Ein und derselbe Most wurde auf 2 Fässer verteilt. Das eine Faß wie üblich im geheizten Gärkeller vergoren und nachher in den Lagerkeller geschafft, das andere kam gleich von Anfang, und zwar an den kältesten Teil des Lagerkellers. In diesem Falle wickelte sich die Gärung durch Verwendung einer vorher belüftet herangezogenen Kaltgärhefe sogar schneller ab als im gleichen Most mit seiner Hefeeigenflora im geheizten Gärkeller. Der warm und kalt vergorene Wein wurde nun einerseits Weinkostern und andererseits einem Weintaxateur vorgesetzt. Letzterer taxierte jedesmal, ohne daß er von der Vorgeschichte der Weine eine Ahnung hatte, den kaltvergorenen Wein um 50.— bis 150.— RM je Halbstück höher. Auf die Frage, warum er eigentlich den einen Wein unbedingt höher einschätze, erhielten wir die Antwort, daß der betreffende Wein länger „auf der Höhe“ bliebe, blumiger und frischer wäre, wodurch der Weinhändler längere Zeit mit diesem Weine operieren könne. So wie der betreffende Weintaxateur die beiden Weine beurteilte, fiel auch das Urteil bei einer Probe durch ein größeres Gremium erfahrener Weinfachleute des Rheingaus aus.

Dieser Versuch lehrt, daß allein durch die Maßnahme einer langsameren, weil kühleren Gärführung, ohne sonstigen zusätzlichen Arbeitsaufwand ein Faß Wein eine kleine, aber beachtliche Mehreinnahme bringen kann.

In sauren und sehr sauren Jahrgängen ist natürlich Kaltgärung nicht zu empfehlen, weil dadurch der biologische Säureabbau behindert und verspätet wird. Der Kellerwirt sollte seine Traubenweine nicht jedes Jahr nach der gleichen Methode vergären, sondern sich den Besonderheiten der Jahrgänge

¹⁾ Auch der schweizerische Gärungsphysiologe Osterwalder-Wädenswil empfahl den Trauben- und Obstweinherstellern Kaltgärung unter Anwendung von Kaltgärheferassen, siehe seine Publikation „Von Kaltgärhefen und Kaltgärung“. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. 90, S. 226—249, 1934.

und Traubensorten anpassen. Es empfiehlt sich, in säurearmen Jahrgängen niedrigere und in säurereichen höhere Gärtemperaturen anzuwenden.

In südlichen Weingebieten steht der Kellerwirt vor ganz gegensätzlichen Problemen. Er ist sorgfältig darauf bedacht, daß die Gärtemperatur nicht in den „Versiedebereich“ ansteigt, weil sonst die Gärung zum Stillstand kommt und der Wein einen zu großen Zuckerrest bei zu niedrigem Alkoholgehalt behält.

Die höheren Lufttemperaturen während der südlichen Traubenernte einerseits, die mehr zu ebener Erde gelegenen Weinkeller andererseits bedingen eine frühere und lebhaftere Angärung der Moste als bei uns im Norden. Dazu kommt noch der wichtige Umstand, daß man in den Massenweinbaugebieten südlicher Länder bedeutend größere Fässer, Tanks oder Zisternen benutzt als bei uns.

Große Flüssigkeitsvolumina besitzen eine entsprechende größere Wärmekapazität als kleine Weingebinde. Dieser Umstand spielt bei der dortigen Mostgärung eine ausschlaggebende Rolle. Die alkoholische Gärung stellt einen exothermen chemischen Vorgang dar, d. h. es wird Energie frei. Von den in einem Mol Traubenzucker steckenden 674 000 cal werden zwar nur rund $3,6\% = 24\,000$ cal in Wärme umgesetzt. Wenn man aber bedenkt, daß während der stürmischen Gärung eine einzige Hefezelle in der Sekunde 20 Millionen Traubenzuckermoleküle verarbeitet, so ist verständlich, daß das Gärgut sich während dessen zusehends erwärmt. Die Gärungswärme kann nun in kleineren Gärbehältern leichter an die umgebende Luft abgegeben werden als in großen, da mit Zunahme des Faßvolumens die auf 1 Liter Inhalt fallende Oberfläche abnimmt.

Über die in verschiedenen Faßgrößen auftretenden Übertemperaturen hat 1886 Müller-Thurgau¹⁾ in der Pfalz Studien angestellt. Er fand bei 13 °C Kellertemperatur folgende Gärtemperaturen:

in einem Halbstück (600 l)	19—22 °C
„ „ Stückfaß (1200 l)	21—25 °C
„ „ 4800-Liter-Faß	30 °C
„ „ 7200-Liter-Faß	33 °C.

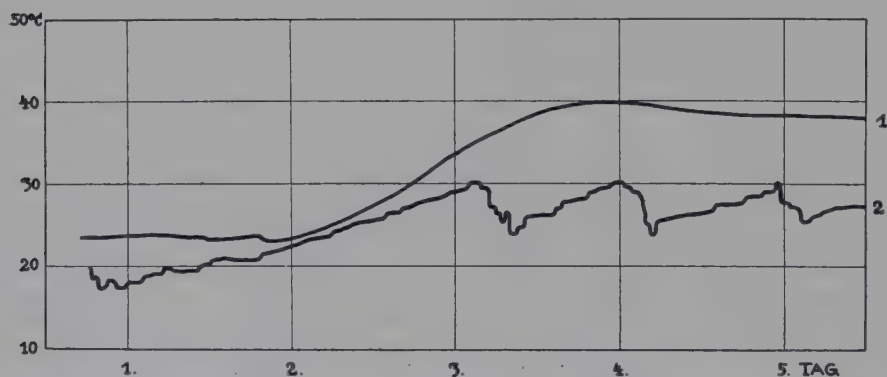


Abb. 69. Die Gärtemperaturen eines algerischen Traubenmostes in einem 110 Hektoliterfaß; 1 = ohne, 2 = mit Kühlung. Es waren 3 Kühlungen notwendig, um die Gärtemperatur unter 30 °C zu halten. (Nach Dugast.)

Man kann sich nun vorstellen, daß in wärmeren Ländern wesentlich höhere Gärtemperaturen auftreten können, wie sie Müller-Thurgau 1886

¹⁾ Müller-Thurgau. „Welches ist die günstigste Temperatur bei der Wein-gärung?“ X. Deutscher Weinbaukongreß Freiburg/Brsg., 1887.

in der Pfalz gemessen hat. In der Tat hat Dugast¹⁾ in Algier in 11000 Liter fassenden Gärbehältern Temperaturen bis 42° C festgestellt. Bei dieser Temperatur wird schließlich die stürmische Gärung jäh beendet, die Hefe wird durch die selbsterzeugte Wärme bzw. den warmen Alkohol abgetötet (vergiftet). Solche durch „Versieden“ in der Gärung steckengebliebene Weine sind außerordentlich schwer wieder in erneute Gärung zu bringen, selbst wenn man frische Hefe zugibt, weil beim Versieden, wie bei der Hefe Autolyse, hochmolekulare Hemmungsstoffe entstehen, die nach Euler, Adler und Dahlgren²⁾ (1935) vor allem das Stadium der Angärung hemmen.

Daher ist es verständlich, daß in warmen Ländern Kühlaggregate, wie sie unsere Bierbrauereien für die rasche Abkühlung der Würze verwenden, zur Abkühlung stürmisch gärender Traubenmoste Verwendung finden. Wie die Ab-

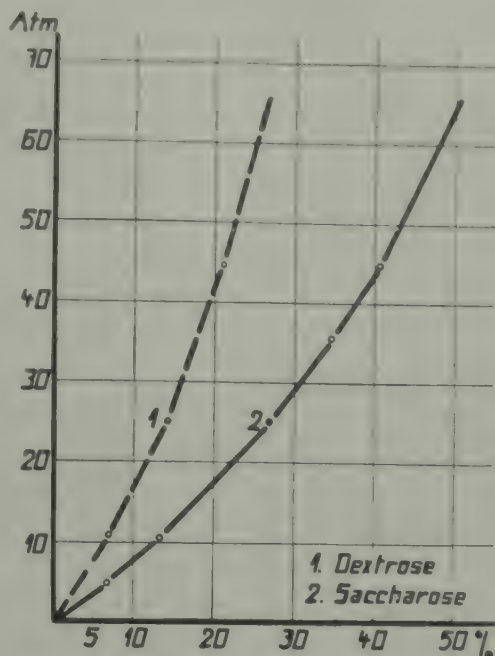


Abb. 70. Darstellung der Saugkraft verschieden konzentrierter Zuckerlösungen.

bildung 69 zeigt, muß ein gärender Most oft 3mal hintereinander durch eine Kühlvorrichtung geschickt werden, um ihn unter die kritischen Ver-

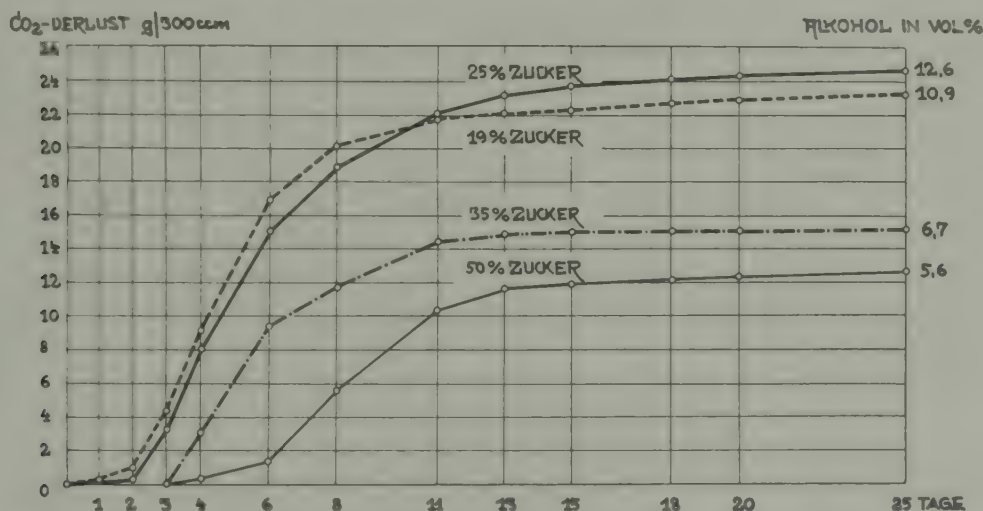


Abb. 71. Die Gärung der gleichen Heferasse (Wädenswil) bei verschiedenen hohen Zuckerkonzentrationen.

siedetemperaturen zu bringen. Daß es nicht die Wärme an sich ist, welche der Hefe schadet, sondern der warme Alkohol, hat schon Müller-Thurgau

¹⁾ Dugast, J. Vinification dans les pays chauds. Paris, 1910.

²⁾ Euler, von H., E. Adler und G. Dahlgren. Über das Vorkommen eines gärungshemmenden Stoffes in Hefezellen. Zeitschr. physiol. Chemie, Bd. 236, S. 119, 1935.

vermutet. Man kann dies experimentell nachweisen, indem man auf 10 Vol. % aufgespritzten Traubenmost einerseits bei 22 °, andererseits bei 32 ° C gären läßt. Bei der niedrigen Temperatur bringt es die Hefe bis auf 13—17 Vol. % Alkoholgehalt, während bei 32 ° C die Hefe nur 0,5—1 Vol. % neuen Alkohol bildet. Läßt man einen natürlichen Traubenmost bei 22 ° und 32 ° C vergären, so ist zunächst die Gärung bei 32 ° C viel flotter, sobald aber 6—8 Vol. % Alkohol gebildet sind, läßt die Leistung der Hefe wesentlich stärker nach als im Versuch bei 22 ° Gärtemperatur.

Über die Verwendung von Kaltgärhefen in der Schaumweinindustrie, siehe S. 198. So wie es möglich war, für kalte Weingegenden kälteunempfindliche Heferassen zu selektionieren, müßte es möglich sein, für wärmere Länder „versiedefeste“ Heferassen zu selektionieren. Letzteres ist anscheinend bisher noch nicht versucht worden.

2. Der von der Hefe bei der Angärung zu überwindende osmotische Gegendruck

Ein jeder Trauben-, Obst- und Beerenmost besitzt eine wasserentziehende Kraft, welche um so größer ist, je mehr Ionen und Moleküle, vor allem Zucker, in ihnen gelöst sind. Diese Kraft kann man messen, in Zahlen ausdrücken, und man bezeichnet sie als osmotische Saugkraft. Diese Saugkraft wirkt auf die im Most enthaltenen Mikroorganismen ein. Letztere müssen in der Lage sein, sie durch Gegendruck auszugleichen, sonst ist durch Wasserentziehung ihr Leben bedroht. Die Wasserentziehung führt zur Plasmolyse der Zellen.

In Abbildung 70 sind die osmotischen Saugkräfte von Dextrose- und Saccharoselösungen verschiedener Konzentration bildlich dargestellt. Man ersieht daraus, daß eine Hefe in einer 25 %igen Saccharoselösung einen Gegendruck von 23 Atmosphären und in einer 25 %igen Traubenzuckerlösung einen solchen von 58 Atm. aufbringen muß.

Man kann nun Gäransätze mit verschieden hohem Zuckerzusatz herstellen und damit einerseits das Verhalten der verschiedenen Hefearten und -rassen bei zunehmendem osmotischem Druck der Nährlösungen, die Veränderungen ihres Stoffwechsels studieren und andererseits die obersten Grenzen der Leistungsfähigkeit der Hefen feststellen. Die Abbildung 71 zeigt das Ergebnis eines solchen Versuches. Man sieht

1. daß mit steigender Zuckerkonzentration bei dieser Kulturhefe der Gärverlauf verlangsamt wird.

2. daß diese Hefe sogar noch den Gegendruck einer 50 %igen Zuckerlösung (die zu 30 % aus Dextrose-Fruktose und zu 70 % aus Saccharose bestand), der etwa 62,5 Atm. beträgt, aufbrachte.

3. daß ab einer gewissen, bei 30 % liegenden Zuckerkonzentration aufwärts, die Alkoholausbeute immer geringer wird. Wenn zu dem hohen osmotischen Widerstand, den die Hefe zu überwinden hat, noch 5—6 Vol. % Alkohol kommen, stellt die Hefe ihre Gärtätigkeit ein und die Mehrzahl der Zellen stirbt durch Plasmolyse. So wie diese Kulturhefe reagieren im Prinzip alle Weinhefen. Jedoch läßt sich in bezug auf osmotische Widerstandskraft sehr unterschiedliches Verhalten bei den einzelnen Arten und Rassen feststellen. Hochgärrige Rassen besitzen allgemein eine höhere osmotische Widerstandskraft. Die höchsten besitzen jedoch die haploiden Hefen der früheren Gattung

Zygosaccharomyces, welche noch imstande sind, Traubenmostkonzentrate von 50–80 Gewichtsprozent Dextrose und Fruktose, die osmotischen Gegen-drucke von 120 bis 250 Atm. verlangen, anzugären.

Ihre Alkoholerzeugung ist freilich bei derart hohen Konzentrationen gering und geht sehr langsam vonstatten. Sie halten sich auch in solchen Fällen lediglich in den obersten Flüssigkeitsschichten auf, weil dort durch die wasseranziehende Kraft der hochprozentigen Zuckerlösung Wasserdampf aus der Atmosphäre aufgenommen wird und dadurch eine ganz dünne Flüssigkeitsschicht mit oft wesentlich geringerer Zuckerkonzentration entsteht. Immerhin genügen diese Stoffwechselvorgänge osmotisch hochresistenter Hefen, um in geschlossene Behälter abgefüllten Trauben- oder Apfelmst-konzentraten unangenehme „Bombagen“ hervorzurufen.

Abgesehen von diesem Fall hat die osmotische Widerstandskraft der Hefe noch in der Praxis der Trauben- und Obstweinbereitung ihre besondere Bedeutung. Dies ist bei der Herstellung von sog. „Ausleseweinen“ und von hochalkoholischen Obstdessertweinen der Fall.

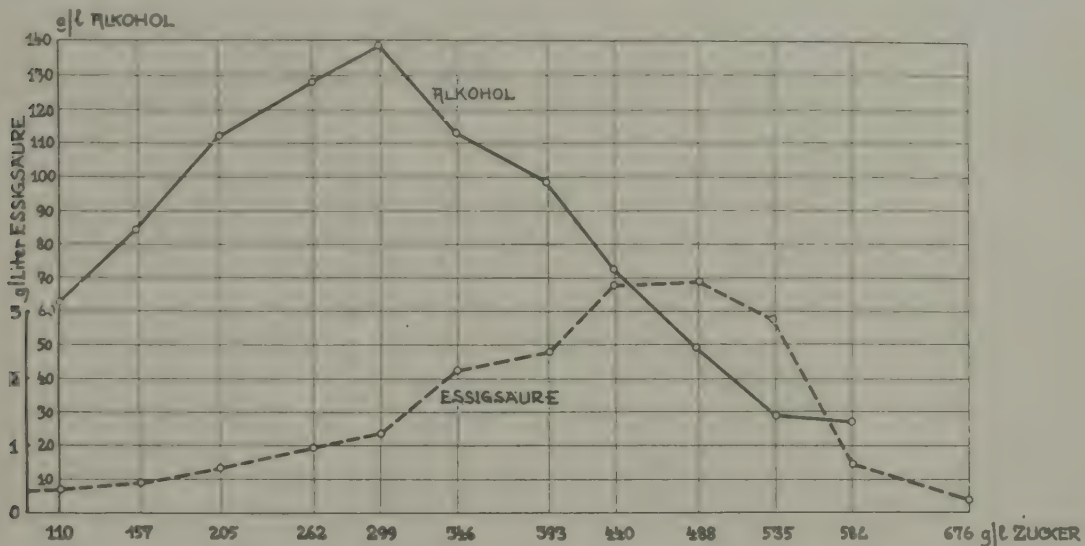


Abb. 72. Alkohol- und Essigsäurebildung der Weinhefe bei steigendem Zucker-gehalt. (Dargestellt nach Zahlen von C. von der Heide.)

Trockenbeerenauslesen von 170–280° Öchsle stellen Zuckerkonzentrationen von 40–65% dar. Die Vergärung solcher Moste kann sich oft auf 5–7 Jahre hinausziehen, dabei beträgt der erreichte Endvergärungsgrad meist nur 40–70 g/l Alkohol. Der langsame Ausbau solcher Trockenbeeren-auslesen birgt natürlich manche Gefahren in sich. Daher wäre es ein Vorteil, Hefestämme zu finden, die nicht allein osmotisch hochresistent, sondern die dabei wesentlich gärtüchtiger sind, als die von Kroemer und Krumbholz aus Trockenbeerenauslesen isolierten, von ihnen „osmophil“ genannten Hefen. Letztere erlaubten wegen ihrer geringen Gärtüchtigkeit keine prak-tische Anwendung. Es kommt jedoch vor, daß manchmal Trockenbeeren-ausleseweine sich in wesentlich kürzerer Zeit ausbauen als es allgemein der Fall ist. Das ist ein Zeichen, daß in ihnen Hefen wirkten, welche neben hoher osmotischer Resistenz ein besseres Gärvermögen besaßen. Diese Hefen isoliert, eignen sich als spezifische „Auslesehefen“, um kürzeren Ausbau solcher Weine in der Praxis zu erzielen. Eine aus einem Kaiserstuhl-Auslesewein,

der spontan 16 Vol. % Alkohol erreicht hatte, 1944 isolierte Heferasse, erwies sich in der Tat befähigt, den notwendigen Alkoholgrad in wesentlich kürzerer Zeit zu erreichen. Damit ist den Herstellern von Trockenbeerenauslesen die Möglichkeit gegeben, den Faßausbau zuckerreicher Auslesemoste zu verkürzen und damit die Gefahrenmomente zu verringern.

Der andere Fall, in dem von der Hefe neben osmotischer Resistenz ein höheres Gärvermögen verlangt wird, ist bei der Herstellung von schweren Obstdessertweinen gegeben, von denen Alkoholgrade von 16–18 Vol. % erwünscht werden.

Da hier im Gegensatz zu den Traubenbeerenauslesen der hohe Zuckergehalt nicht von Anfang an vorhanden ist, sondern durch Zuckerzugabe künstlich erzielt wird, hat man hier zur Vermeidung gärungshemmender hoher Zuckerkonzentrationen die Möglichkeit „gestaffelter“ Zuckerzugabe. Unter „Zuckerstaffelung“ versteht man die Maßnahme, daß man den zur Erzielung hoher Alkoholgrade notwendigen Zucker nicht auf einmal, sondern in „Staffeln“ zugibt.

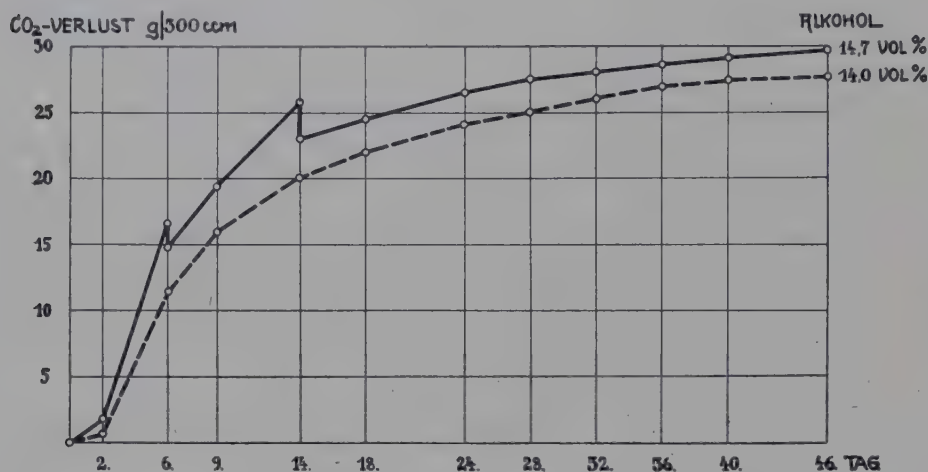


Abb. 73.

27 Gew. % Zucker einer Weinhefe gestaffelt (ausgezogene Kurve) und ungestaffelt (gestrichelte Linie) geboten.

Der praktische Effekt einer solchen gestaffelten Zuckerzugabe ist, wie Abbildung 73 zeigt, daß der erwünschte Alkoholgehalt früher erreicht wird, weil die Hefe keine so hohen osmotischen Gegendrucke aufbringen muß.

In biochemischer Hinsicht ist für die Vergärung höherer Zuckerkonzentrationen, der größere Anfall von flüchtiger Säure charakteristisch, wie aus Abbildung 72 deutlich hervorgeht. Mit der Zuckerstaffelung wird zugleich ein geringerer Anfall flüchtiger Säure erreicht, was in qualitativer Hinsicht für Dessertweine ein Vorteil ist.

3. Der Faktor: innere Oberfläche des Gärgutes

Bekannt ist, daß Obst- und Traubenmaischnen mit zerrissenem Fruchtfleisch, Schalen, Samen, Rappen und eventuell Erdpartikelchen in kürzerer Zeit und stürmischer gären als der von der Maische abgezogene eventuell geschönte und filtrierte Saft. Wenn man den Saft einerseits naturtrüb beläßt, andererseits durch Schönung und Filtration seiner feineren Trübungsbestandteile beraubt, kann man feststellen, daß der naturtrübe schneller durchgärt als der geschönte und filtrierte. Nimmt man gar eine Entkeimungsfiltration

mittels eines bakteriendichten Filters vor und macht dadurch einen Saft „blitzblank“, so kann man feststellen, daß er nach Beimpfung mit Reinhefe bedeutend langsamer gärt, als der mit einem gewöhnlichen Filter filtrierte.

Aus solchen Beobachtungen haben Praktiker den Schluß gezogen, daß die starke EK-Filtration für die Hefe ernährungswichtige Stoffe entzöge. Daß dem aber nicht so ist, konnte Schmitthenner elegant beweisen, daß er EK-filtrierte Säften mit der Hefe feine Kieselgur zusetzte. Die Abbildung 74 zeigt das Ergebnis einer Versuchsreihe von Schmitthenner, das wir in Geisenheim voll bestätigen konnten.

Schmitthenner erklärte diese Erscheinung folgendermaßen (Vortrag auf dem II. Internationalen Kongreß für gärungslose Früchteverwertung 1937):

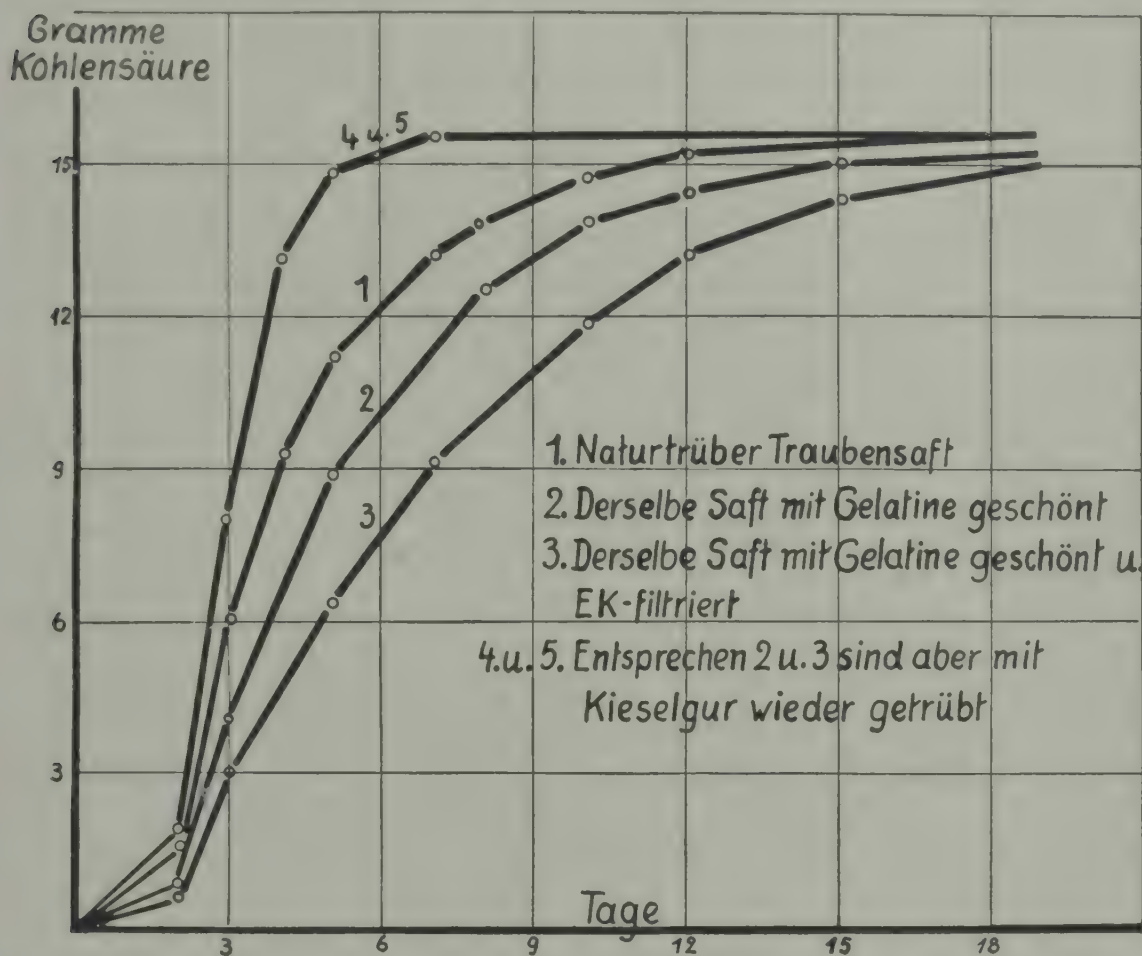


Abb. 74. Ein Gärversuch mit verschiedener innerer Oberfläche des Mostes von Schmitthenner.

„1. An die Teile, welche einen Most trüben, hängen sich die in den Most eingeimpften Hefezellen an. Sie sind dadurch gleichmäßig im Most verteilt und ihre Aktionsbasis ist größer als in dem Falle, in dem die Hefe in einen vollkommen blanken Most eingeimpft wird. In diesem Falle sinkt, was jedem Gärungsphysiologen bekannt ist, die Hefe auf den Boden der Gärflasche und hat dann nur eine sehr beschränkte Aktionsbasis.

2. Außerdem ist bekannt, daß alle Trübungsstoffe bewirken, daß die Kohlensäure während der Gärung rascher entbunden wird, und man weiß ja, daß die Kohlensäure, welche sich im Most anhäuft, die Gärung wesentlich verschleppt.“

Dieser Erklärung Schmitthenners ist nichts mehr als Ergänzung zuzufügen. 1934, als wir die Bedeutung der inneren Oberfläche in Gärlösungen noch nicht voll erkannt hatten, sollten in Geisenheim 2 Halbstücke EK-filtrierten Traubenmostes einer Reingärung mit je einer Heferasse unterzogen werden. Während die naturtrüben Moste schon längst mit der Gärung zu Ende waren, goren die blanken Moste trotz wiederholtem Hefezusatz äußerst schleppend. Sie brauchten zu ihrem Gärpensum fast ein Jahr und erreichten nur einen ungenügenden Vergärungsgrad. Wenn wir heute wieder vor eine solche Aufgabe gestellt würden, eine absolute Reingärung eines EK-filtrierten Mostes durchzuführen, würden wir sterilisierte Kieselgur, Quarzsand usw. als Ersatz für die durch die Filtration entfernte innere Oberfläche zugeben.

Unterdessen haben wir auch gesehen, daß in Melassebrennereien auf den Grund der oft riesigen Gärbottiche rauhe, neue Ziegelsteine gelegt wurden. An diesen entbindet sich die Gärungskohlensäure derart lebhaft, daß das Bild der Steine an der Oberfläche der gärenden Flüssigkeit abgezeichnet wird.

Der Faktor „innere Oberfläche des Gärgutes“ spielt auch bei der sog. „Entschleimung“ der Traubenmoste eine Rolle. Durch das Absetzenlassen der Trubbestandteile vor der Gärung wird auch die innere Oberfläche der Moste verringert. Dadurch vergären diese nicht so schnell und häufig auch nicht so restlos wie die gleichen Moste mit all ihren Trübungsbestandteilen, woran sich einerseits die Hefen gerne ansiedeln und andererseits sich die Gärungskohlensäure leichter entbindet.

Die Hefe vermehrt übrigens bei fortschreitender Sprossungstätigkeit selbst die innere Oberfläche der Gärflüssigkeit durch ihre eigene Körperoberfläche. Man kann die von einer Hefezelle dem Substrat dargebotene Oberfläche berechnen. Hierzu könnte man die von der Mathematik für die Oberfläche eines Rotationsellipsoides angegebene Formel verwenden (siehe F. Just, Wochenschrift f. Brauerei, 57. Jahrg., S. 262, 1940). Man bekommt jedoch praktisch die gleichen Werte mit einer wesentlich einfacheren Rechnung. Man berechnet die Oberfläche einer Kugel mit dem Durchmesser der halben Summe des Längen- und Breitendurchmessers der Hefezelle.

Nehmen wir als Durchschnittsmaß einer Weinhefenzelle 5 μ Breite und 10 μ Länge an, so können wir errechnen, daß 100 Milliarden Hefezellen (in einem Liter eines gärenden Mostes können 50–200 Milliarden Hefezellen gezählt werden) dem Substrat eine Oberfläche von 17,6 qm darbieten. In einem Hektoliter bietet also die gleiche Hefe die respektable Oberfläche von 1760 qm = 17,6 Ar dar. Wegen ihrer großen Oberfläche benützt der Weinküfer in besonderen Fällen gerne saubere, frische Hefe als Schönungsmittel.

Fein pulverisierte Schönungskohle (Eponit) besitzt pro g eine innere Oberfläche von 600–700 qm. Die Oberfläche des in unserem Rechnungsbeispiel zugrunde gelegten Falles entspräche also derjenigen von 3 g Eponit pro Hektoliter.

B. Chemische Faktoren bei Gärungen

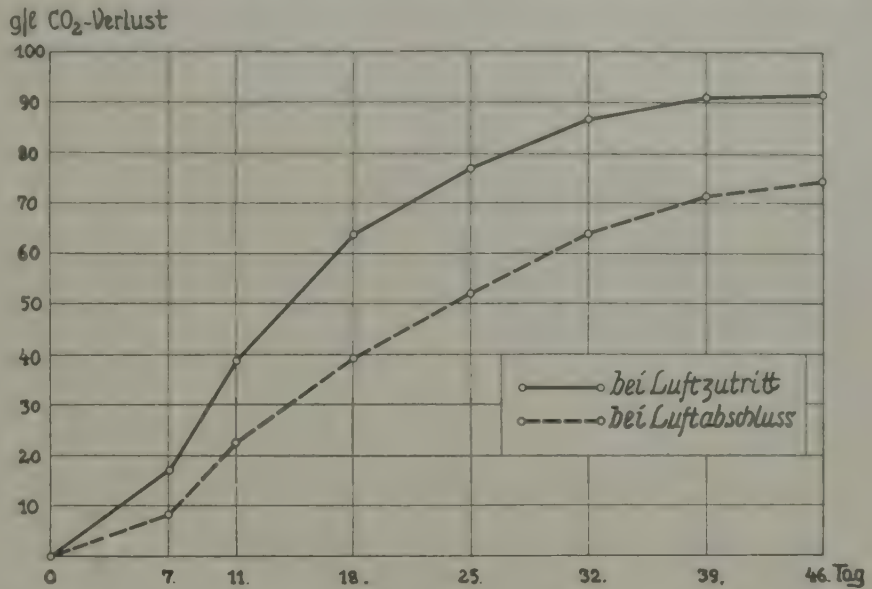
1. Faktor: Sauerstoff

Wir können bei der alkoholischen Gärung Sauerstoff zuführen oder dem Gärgut Sauerstoff entziehen. Das erstere können wir durch Belüftung erzielen, das letztere durch Zugabe reduzierender, O₂-bindender Stoffe. Als

solchen benutzt man seit dem frühen Mittelalter den Schwefel, bzw. das beim Verbrennen elementaren Schwefels freiwerdende Gas SO_2 , das mit Wasser H_2SO_3 = schwefelige Säure ergibt.

Wir könnten diesem Kapitel ebenso die Überschrift geben: „Der Einfluß des Redoxpotentials auf die Gärung“; denn ob eine Flüssigkeit viel oder wenig gelösten Sauerstoff enthält, das spiegelt sich automatisch in seiner Redoxzahl (siehe Seite 63). Eine Belüftung stellt in unserem Fall schließlich nichts anderes dar, als eine Gärung bei dauernd hohem Redoxpotential. Und zuguterletzt bedeutet Schwefeln des Gärgutes nichts anderes als eine Gärung bei niedriger Redoxstufe durchführen. Der Einfluß des Sauerstoffs und derjenige der schwefligen Säure kann heute unter dem gemeinsamen Begriff Redoxpotential betrachtet werden.

Abb. 75. Die CO_2 -Abgabe einer offen und einer unter einem sog. „Gärspund“ gärenden Hefekultur. (Nach Osterwalder.)



Betrachten wir zunächst den Einfluß einer Luftzufuhr auf die Physiologie der Hefe. Dabei muß gleich von Anfang an betont werden, daß zwischen Belüftung und Belüftung sehr große Unterschiede in ihrer Wirkung sein können. Der Praktiker nennt belüften, wenn er einfach ruhende Luft auf ein Gärgut einwirken läßt, oder wenn er ein Gärgut von einem Behälter in einen anderen schüttet, was langsam und schnell, in dünnem oder dickem

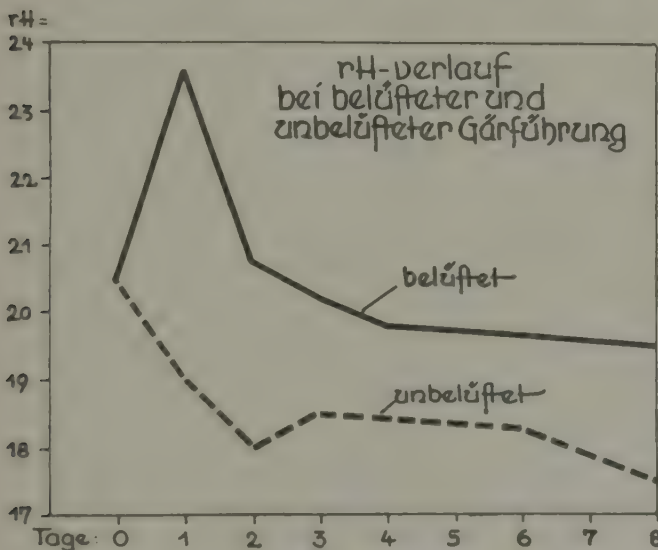


Abb. 76.

Strahl geschehen kann. Schließlich leitet er mit Hilfe eines Rohres Luft durch die Gärflüssigkeit, das verschiedenen Durchmesser haben kann oder er preßt Luft in Form feiner und feinsten Perlen mittels Glasfritten oder Tonkerzen ein. Alles das wird Belüften genannt. Sicherlich gibt es Fälle, in denen allein schon das Umgießen von einem Behälter in den anderen, vor allem in dünnem Strahl einen Einfluß auf das Eintreten der Gärung,

die Angärung hat. Das ist z. B. der Fall, wenn der Most zu stark geschwefelt worden ist. Auf die Gärung selbst, ihren Verlauf haben jedoch alle diese Belüftungen keinen Einfluß mit Ausnahme der feinperligen Zuführung von Luft. Selbst, wenn man kontinuierlich mittels eines Glasrohres von 1—2 mm lichter Weite durch eine kleine Menge Most von 0,3—0,5 Liter, Luft hindurchleitet, so beeinflußt dies, wie der in Abbildung 77 wiedergegebene Versuch zeigt, die Hefe nicht.

Erst wenn man die Luft durch ein Bambusrohr, oder durch ein mit 2 Mousselinlagen abgeschlossenes Glasrohr preßt, ist eine sichtliche Beschleunigung der Stoffwechseltätigkeit der Hefe zu konstatieren. Diese drückt sich vor allem in einer Stimulierung der Zellenvermehrung aus. Die stärkste Wirkung, die sogar in der 1. Nachzucht der belüftet angezogenen Hefe nachweisbar ist, hat die feinstperlige Belüftung.

Der Effekt der Belüftung setzt sich aus verschiedenen Komponenten zusammen: 1. Dem Effekt des Sauerstoffs. 2. dem Effekt der Bewegung,

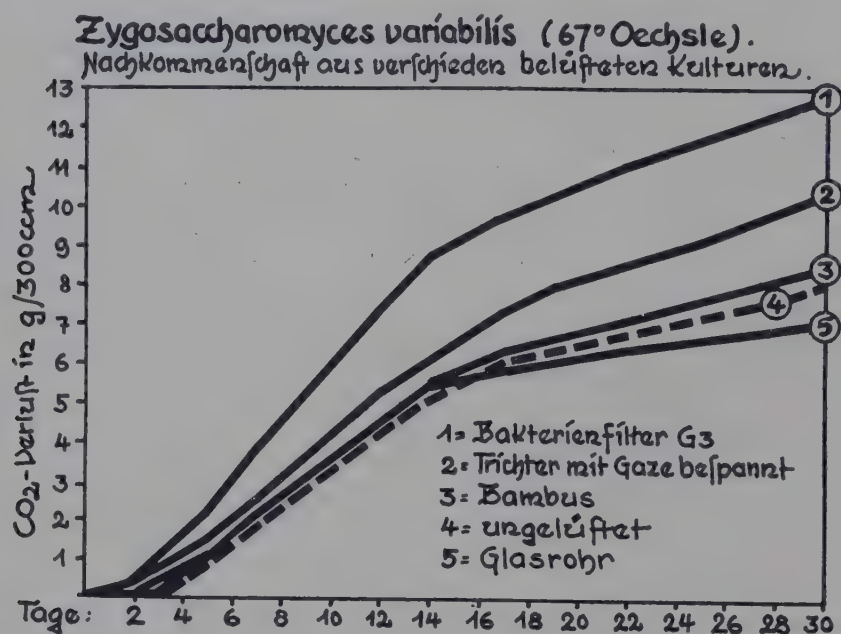


Abb. 77.

welche die Hefen dauernd mit neuen Nahrungsstoffen in Berührung bringt und Schichtungen verhindert, 3. dem Effekt der beschleunigten Entfernung der Stoffwechselprodukte CO_2 Alkohol und Essigsäure. Daß die wichtigste Komponente dabei der Sauerstoff ist, kann nachgewiesen werden, indem man ein indifferentes Gas wie reinen Stickstoff in feinsten Perlen durch eine gärende Flüssigkeit leitet. Man bekommt auch dabei eine Gärungsbeschleunigung und eine etwas höhere Hefeaussbeute, aber lange nicht eine solche wie mit Luftdurchführung. Die Frage der Belüftung bei Vermehrung von Kulturheferassen hat schon 1894 Julius Wortmann¹⁾ kurz nach der Gründung der Geisenheimer Hefereinzuchtstation experimentell zu klären versucht. Sie war ja für den Betrieb einer Hefereinzuchtstation von prinzipieller Bedeutung. Wortmann kam auf Grund seiner diesbezüglichen Befunde zu dem Schluß, daß eine belüftete Anzucht wohl eine größere Hefeaussbeute ergäbe, daß aber die Leistungsfähigkeit der einzelnen Hefezellen im Vergleich zu unbelüftet herangezogenen eine geringere wäre. Dies war

¹⁾ Wortmann, J. Untersuchungen über den Einfluß des Lüftens sowie der dauernden Gärtätigkeit auf den Charakter der Hefen. Mittlg. f. Weinbau und Kellerwirtschaft. Bd. 7, 1895.

an sich ein Trugschluß, der daher kam, daß Wortmann die Hefekulturen nicht feinstperlig sondern grobperlig, lediglich durch ein Glasrohr belüftete.

Zu denselben Feststellungen wie wir kam übrigens auch Osterwalder¹⁾. So schreibt er „daß von einer Schmälerung der Gärenergie der Hefen durch die stärkere Lüftung keine Rede sein kann“ (S. 177). Selbst die Fähigkeit zur Kaltgärung hatte in seinen Versuchen die Heferasse *Herlberg* trotz belüfteter Anzucht bei 24°C nicht verloren. Weiterhin unterstreicht Osterwalder ebenfalls die Wichtigkeit der „Art der Lüftung“. Die höchsten Hefeaussbeuten erzielte Osterwalder bei feinstperliger Belüftung mittels Bimstein oder Leinestoff. Bemerkenswert ist ferner, daß nach Weidenhagen²⁾ die Anzucht der Bierhefe bei minimaler Zuckerkonzentration und starker Belüftung in 8—10 Stunden der Invertasegehalt der Hefe um das 10—15fache angereichert wird.

Die genau gleiche Anzahl der ersten Nachkommenschaft einer belüftet angezogenen Weinheferasse ist der gleichen Anzahl unbelüftet herangezogener Hefezellen stets an Leistungsfähigkeit überlegen. Am stärksten kommt dies bei solchen Hefearten und -rassen zum Ausdruck, welche von Natur einen höheren Redoxbereich benötigen, z. B. *Zygosaccharomyces variabilis*.

Die 1. Nachkommenschaft feinstperlig belüfteter Hefekulturen vermehrt sich schneller, gärt schneller, wird mit ungünstigen Bedingungen wie Essigsäuregegenwart, niedrigere Redoxstufe (also höherer SO₂-Gehalt) niedrigere Temperaturen und höherer osmotischer Gegendruck, wie die Abbildungen 78, 79 zeigen, stets besser fertig. Diese auffallende Tatsache kann nur so erklärt werden, indem man annimmt, daß bei feinstperliger Belüftung der ganze Enzymapparat der Hefen so kräftig wird, daß davon auch noch die ersten Tochterzellen dieser Hefen profitieren und chemisch leistungsfähiger sind. Wir können die größere

Zygosacch. Variabilis (101° Oechsle).

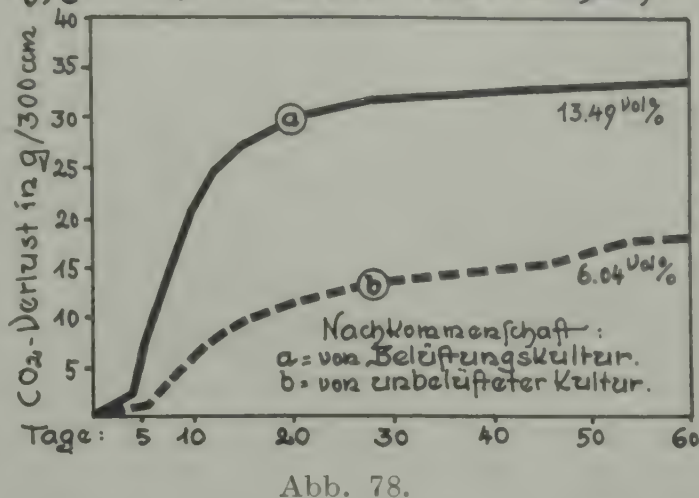


Abb. 78.

Jerez 1933. (121° Oechsle)

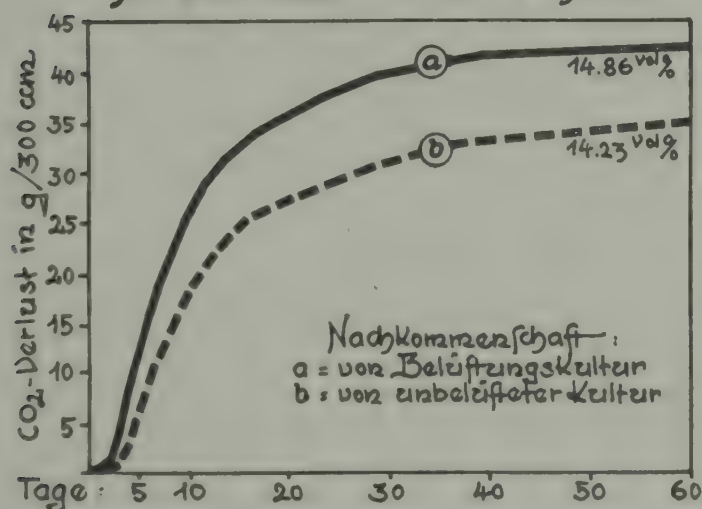


Abb. 79.

¹⁾ Osterwalder, A. Zur Förderung der Hefereinzucht für die Wein- und Obstweingärung. Landw. Jahrbuch der Schweiz, Jahrgang 1942, S. 169—201.

²⁾ Weidenhagen, R. Die Anreicherung von Invertase in untergäriger Bierhefe. Angew. Chemie, 47. Jahrg. S. 581—583, 1934.

Leistungsfähigkeit feinstperlig herangezogener Hefe praktisch in solchen Fällen ausnützen, indem wir von der Hefe höhere Leistungen und die Überwindung größerer Schwierigkeiten verlangen müssen. In diesem Falle genügt schon, wenn der eigentliche Hefeansatz feinstperlig belüftet wird.

Eine fortdauernde Kultur dieser Heferassen unter Feinstbelüftung würde jedoch dahin führen, daß sie sich ganz auf ein Leben in höheren Redoxbereichen einstellen und dann versagen, wenn von ihnen eine Gärung in einem Medium mit niedrigem Redoxbereich z. B. in einem stärker geschwefelten Gärsubstrat, verlangt wird. Ich halte es für unmöglich sog. „Sulfithefen“ jahrelang feinstbelüftet weiter zu vermehren, ohne daß die wichtige Eigenschaft der SO_2 -Verträglichkeit verloren geht.

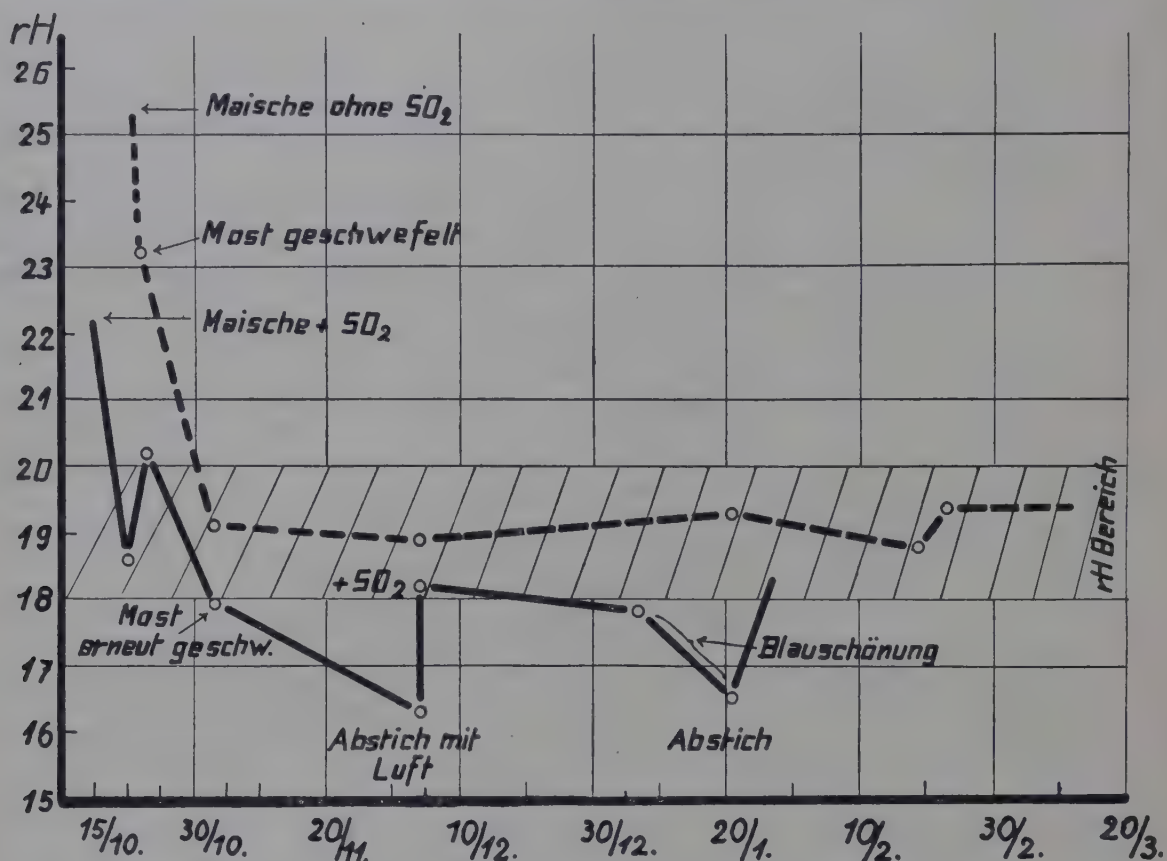


Abb. 80. Die Verfolgung der rH-Zahlen zweier 1947er Rheingauer Weine im Halbstückfaß. Die ausgezogene Kurve schildert den rH-Verlauf eines schon in der Maische geschwefelten Mostes, die gestrichelte Kurve den eines Mostes, der erst nach der Kelterung geschwefelt worden war. Man sieht, daß der Wein aus der geschwefelten Maische die ganze Beobachtungszeit hindurch „reduktiver“ war als der andere. Man beachte weiterhin den Einfluß des Abstiches mit Luft auf die rH-Zahl!

Somit kommen wir zu der anderen Seite des Faktors Sauerstoff, das ist die Sulfitgärung oder die Gärung bei Sauerstoffarmut oder in niedrigem Redoxbereich. In der Weinkellerwirtschaft gebraucht man seit dem späten Mittelalter schweflige Säure. Während der Kellerwirt früher lediglich durch Verbrennen elementaren Schwefels das Gas SO_2 gewinnen konnte, ist er in der Neuzeit nicht mehr allein auf diese altertümliche Methode des Weinschwefelns angewiesen, sondern kann außerdem mit reinem komprimierten SO_2 , wäßrigen

Lösungen von H_2SO_3 und SO_2 abspaltenden Salzen, wie das Kaliumpyrosulfit, arbeiten. Dadurch kann man die zu verabreichende Menge an SO_2 genauer dosieren, was einen bedeutenden Fortschritt in der Schwefelungsmethodik bedeutete.

Warum muß man den Wein überhaupt schwefeln, wie wirkt, SO_2 auf die Weinorganismen, insbesondere Weinhefen?

Der erste Teil der Frage wird heute allgemein dahingehend beantwortet, daß der Wein ohne Schwefelung hochfarbig und nicht so lange haltbar wäre. Das ist in der Tat der Fall. Der zweite Teil der Frage wurde bisher allgemein dahingehend beantwortet, daß die schweflige Säure mikrobizid wirke und je nach Dosierung die Weinmikroben töten würde. Dabei übersah man jedoch, daß die nach dem Gesetz im deutschen Wein zugelassene Höchstdosierung von 0,02 Gew. % Gesamt- SO_2 noch kaum eine mikrobizide Wirkung haben kann, zumal das einem Most oder Wein zugefügte SO_2 sehr schnell von Glukose, Aldehyden usw. gebunden wird und die Menge der in freier Form verbleibenden schwefligen Säure außerdem von der Wasserstoffionenkonzentration des Substrates abhängt. Die Wirkung der schwefligen Säure auf Mikroben, speziell auf Hefen, ist im Most eine geringere als im Wein. Das kommt vor allem daher, daß der Most stets höhere Redoxzahlen aufweist als der Wein — oder mit anderen Worten, daß der Most sauerstoffreicher ist als der Wein. Es ist falsch die Rolle der schwefligen Säure auf Most und Wein vom Gesichtspunkt Antisepsis aus zu betrachten. Sie ist nur vom Gesichtspunkt Redoxpotential voll verständlich.

Zunächst läßt sich mit Leichtigkeit experimentell beweisen, daß Mengen bis 200 mg SO_2 /Liter in einem Most nicht ausreichen um Hefen zu töten und daß die letale Dosis im Most wesentlich höher liegt.

Man impft 5 Flaschen Traubenmost mit einer Reinhefe an. Sobald dieser sichtlich ins Gären gekommen ist, gibt man der ersten Flasche soviel SO_2 zu als 100 mg SO_2 /l entsprechen würde, der zweiten 200 mg, der dritten 300 mg SO_2 /l usw. Man kann nun beobachten, daß der Most fast augenblicklich die Gärung einstellt, wie der Praktiker sagt „stumm“ wird. Aus dieser Beobachtung zieht der Praktiker den Schluß, daß nun die Hefe teilweise oder gänzlich abgetötet worden wäre. Indessen ist dies bis zu einer gewissen Dosis, der wirklichen letalen Dosis ein Trugschluß. Unser Experiment lehrt uns das in einfacher Weise. Nach 12 oder 24 Stunden entnehmen wir unseren mit 100—500 mg SO_2 „stumm“ gemachten Gärmustproben, einige Oesen des abgesetzten Hefedepots und impfen sie in frischen, nicht geschwefeltem Traubenmost, oder wir gießen nach dem Muster Emil Hansens Agarplatten. Sodann sehen wir, daß selbst eine Schwefelung mit 300 mg SO_2 die gärende Hefe nicht getötet, sondern lediglich gehemmt oder gebremst hat; denn in frisches Substrat übertragen, zeigen sie in kurzer Zeit wieder normales Leben.

Erst Mengen über 300 mg SO_2 , in der Regel um 350 mg SO_2 im Liter vermögen die Hefen, auch die Kahlhefen wirklich zu töten. Mengen bis 350 mg SO_2 sind also Hemmungsdosen und die letale Dosis beginnt erst hier. Auch für die lassen sich keine absoluten Zahlen angeben, weil sie wiederum weitgehend von der Redoxzahl des verwendeten Mostes abhängt.

Im Jahre 1947 kam bei uns der Traubenmost zum Teil mit unglaublich hohen Redoxzahlen herein. rH-Zahlen von 24 und 25, die wir früher nur nach intensiver künstlicher Belüftung in Traubenmosten erzielten, waren in frisch gekelterten Mosten 1947 nicht selten. Dadurch verschiebt sich in einem solchen Falle sowohl die Hemmungsdosis als auch die letale SO_2 -Dosis für Hefen weiter nach oben.

Die schweflige Säure hat in der Kellerwirtschaft und in der Süßmosterei wohl auch dann und wann rein antiseptische Aufgaben zu erfüllen z. B. bei der Sterilisation von Korken, Flaschen, Glasballons usw. Hier wird sie jedoch in wesentlich stärkerer Dosierung, nämlich 0,2–0,5 %ig und in wäßriger Lösung angewendet. In Most und Wein liegt jedoch der Schwerpunkt der schwefligen Säure in ihrer Eigenschaft als

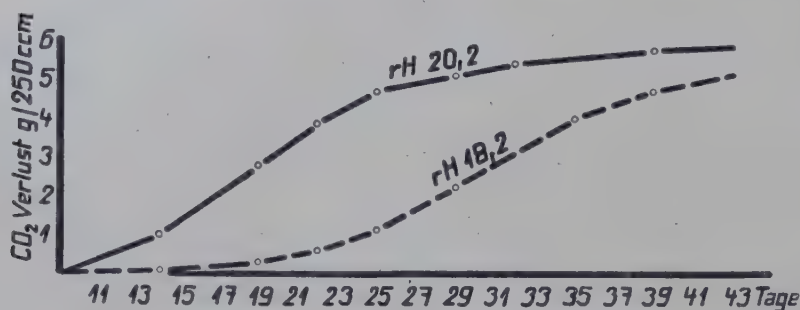
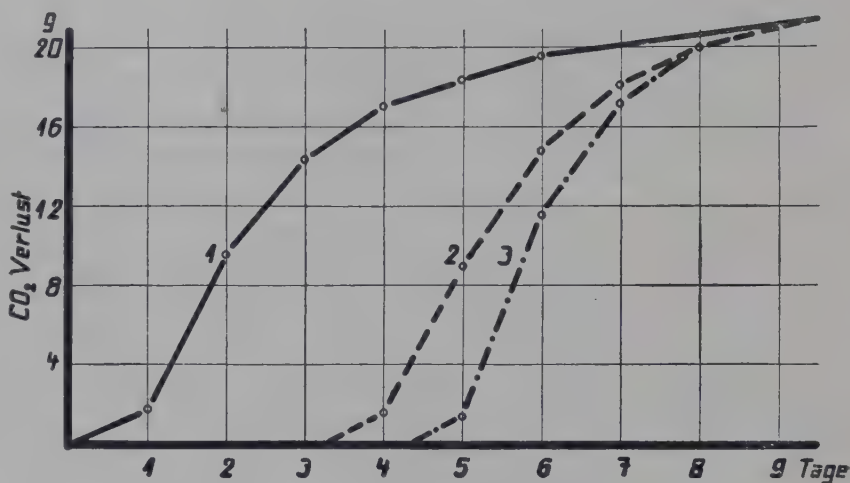


Abb. 81. Der Verlauf einer Gärung von 2 verschiedenen Anfangsredoxstufen aus. Der Most mit einer höheren Anfangsredoxstufe gärt früher und schneller.

Sauerstoffaufnahme — oder Reduktionsmittel. SO₂-Ionen haben das lebhafteste Bestreben Sauerstoff zu binden. SO₃-Ionen sind schon gesättigter, haben aber auch noch die Tendenz weiter Sauerstoff aufzunehmen. Abgesättigt sind diese Ionen erst wenn sie zu Sulfationen (—SO₄) oxydiert sind.

Durch ihren Sauerstoffhunger entziehen SO₂-Ionen dem Substrat gelösten oder locker gebundenen Sauerstoff, der sonst durch Oxydasen auf

Abb. 82. Die Anfangsredoxstufe wurde durch Zugabe von Ascorbinsäure (Vitamin C) gesenkt, 1 = Kontrolle, 2 = AnfangsrH = 18,0, 3 = Anfangsredoxstufe = 16,1; die Hefe reagiert darauf, wie wenn der Most geschwefelt worden wäre.



oxydable organische Verbindungen übergehen würde. Aus dieser Reduktionswirkung entsteht die hellere Farbe des Mostes bzw. Weines, seine Luftbeständigkeit. Selbst, wenn man Luft auf ihn einwirken läßt, so wird der Luftsauerstoff zunächst von den SO₂- und SO₃-Ionen aufgenommen. Man kann die Wirkung der schwefligen Säure daher mit einem „Stoßkissen“ vergleichen. Sie hat die Sauerstoffstöße aufzufangen, die bei den Abstichen, Schönungen und Abfüllungen auf den Wein einwirken. Daraus ergibt sich, daß man den Most und Wein mit SO₂ versehen muß solange er solchen Sauerstoffstößen ausgesetzt ist und nicht mehr, wenn er auf Flaschen abgefüllt wird, wo er nur mit minimalen Mengen Sauerstoff in langen Zeiträumen, im Laufe von Jahren in Berührung kommt.

Die derzeitige Schwefeltechnik in der deutschen Weinkellerwirtschaft neigt sehr häufig zu dem Fehler, daß der Wein in der ersten Lebensphase, wo er häufig mit Sauerstoff in Berührung kommt, zu wenig und vor der Flaschenfüllung zu viel Schwefel verabreicht bekommt.

Das kommt hauptsächlich daher, daß man das Wesen der Schwefeltechnik nicht richtig erkannte und zu sehr vom Gesichtspunkt Antisepsis betrachtete.

Aus dieser Anschauung heraus glaubte man häufig in der Kellerpraxis, die Mostschwefelung sehr vorsichtig handhaben zu müssen. Man befürchtete, die Hefen würden getötet und an der Gärung gehindert werden. Man befürchtete weiterhin, die Weine würden nicht richtig durchgären und einen Zuckerrest behalten.

Man kann sich aber durch das Studium eines Sulfitgärungsversuches leicht davon überzeugen, daß obige Befürchtungen unbegründet sind. Wie die graphische Darstellung eines solchen Versuches in Abbildung 83 zeigt, bewirkt eine kräftige Mostschwefelung lediglich eine Verzögerung des Gärungseinsatzes. Der Verlauf der Gärkurven ist selbst bei einer in der praktischen Kellerwirtschaft ungewöhnlichen Dosis von 300 mg SO_2 genau so steil, ja eher sogar noch steiler als ohne Schwefelung. Die Kurven der geschwefelten Moste erreichen dieselbe Höhe wie die Kontrollkurve. Daß die Alkoholausbeuten dieselben sind, bestätigen die Alkoholbestimmungen der Versuchsweine. Ja zuweilen kann man sogar in den Weinen aus geschwefelten Mosten einige Gramm Alkohol mehr feststellen. Dies kommt daher, daß in ungeschwefelten Mosten, vor allem wenn sie eine hohe rH-Zahl aufweisen, deutlich mehr Hefezellen wachsen als in dem gleichen, aber geschwefelten Most. Zählungen der Hefepopulation solcher Versuche ergaben, daß in den geschwefelten Mosten die gleiche Gärleistung von einer wesentlich kleineren Hefepopulation vollbracht wird.

Tabelle 5. Auf 50° Oechsle verdünnter Traubenmost mit 6,1% Gesamtsäure, 16 mg Gesamt- SO_2 und 8 mg freiem SO_2 /l, geschwefelt mit Kaliumpyrosulfit.

SO_2 -Gaben	Rückgang des Gesamt- SO_2	Freies SO_2 am Schluß
+ 100 mg SO_2 /l	auf 62 mg = um 47%	6 mg
+ 200 mg SO_2 /l	„ 122 mg = um 43%	7 mg
+ 300 mg SO_2 /l	„ 209 mg = um 34%	9 mg

In der Praxis ist es nicht gleichgültig ob man dem Most oder Wein SO_2 in Gas- oder gebundener Form zufügt. Mit $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ gelangen K-Ionen in den Most, welche mit zunehmendem Alkoholgehalt die Ausfällung von Kaliumtartrat beschleunigen und somit die Gesamtsäure vermindern können. An einem Rückgang der Gesamtsäure bzw. der Weinsäure hat man nur

in sauren Jahrgängen Interesse. In solchen wäre die Schwefelung mit Kaliumpyrosulfit also ein Vorteil, in säurenarmen Jahrgängen dagegen wäre sie ein großer Nachteil. Immer wieder sieht man, daß wir bei unserer Traubenweinbereitung nie allgemein gültige Regeln aufstellen können, sondern uns immer nach dem Charakter des Jahrganges richten müssen. Die eine Maßnahme ist in einem Jahr grundfalsch, im nächsten dagegen richtig. Das in Tabelle 5 geschilderte Versuchsergebnis zeigt, daß während der Gärung 30–50 % der zugefügten schwefligen Säure verschwinden, am Schluß also nie mehr die Anfangsdosis zu 100 % noch vorhanden ist. Wird in der ersten Hälfte der Lebensgeschichte eines Weines tüchtig geschwefelt, so ist die Gefahr der Überschwefelung bedeutend geringer, als wenn die Schwefelung in die 2. Lebenshälfte des Weines verlegt wird, in der die schweflige Säure normalerweise keine großen Umwandlungen mehr erlebt.

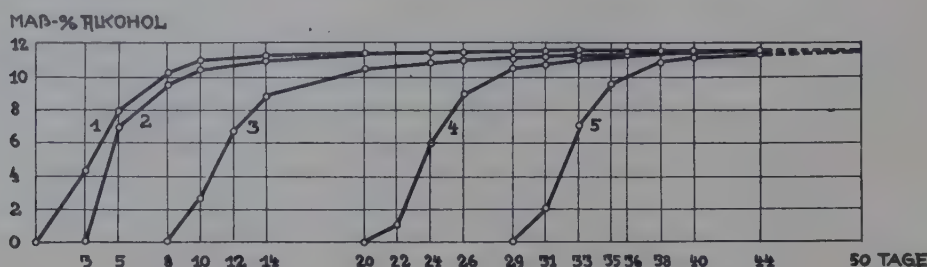


Abb. 83. Einsatz und Verlauf der Gärung bei verschiedenem SO_2 -Zusatz. 1 = 0 mg, 2 = 100 mg, 3 = 150 mg, 4 = 200 mg, 5 = 300 mg SO_2 /Liter. Die mit 400 und 500 mg SO_2 /Liter versetzten Versuche kamen nicht in Gärung.

Das Wesen der Schwefeltechnik gerade bei den deutschen Weinen besteht darin, die Mostgärung bei verringertem Sauerstoffgehalt des Mostes, kurzum in niedrigem Redoxbereich durchzuführen. Dadurch werden alle sauerstoffliebenden Organismen wie Essigbakterien, Schleimhefen, Apiculatushefen ausgeschaltet. Sie können von dem Stoffkapital des Mostes nicht zehren, weil ihnen der Sauerstoff fehlt. Und diejenigen Organismen, die in dieser Redoxstufe noch existieren können, werden zu einem Stoffwechsel gezwungen, der weniger Sauerstoff benötigt oder sie müssen versuchen auf anoxybiontischem Wege Energie für ihre Stoffumsetzungen und Lebensvorgänge zu gewinnen. Ein solcher Weg ist die alkoholische Gärung. Wir zwingen also mit der SO_2 -Zugabe die Hefen zur alkoholischen Gärung bzw. zur intramolekularen Atmung und hindern sie an der direkten Veratmung, d. h. Totalveratmung von Zucker.

Das ist in gärungsphysiologischer Hinsicht das Wesen der Most- und Weinschwefelung. Daher ist sie mehr an die Anfangsphase im Werdegang des Weines zu verlegen als das bisher geschah.

Die Vorgänge bei der Sulfitgärung sind in biochemischer Hinsicht noch nicht genügend erforscht. Es liegt aber bereits Beobachtungsmaterial darüber vor, daß die Sulfithefen, vor allem die der Hefegattung *Saccharomyces*, in der Lage sind, im Notfalle, der ja bei stärkerer Einschwefelung gegeben ist, von Sulfiten und Bisulfiten Sauerstoff zu „demonstrieren“. Es steigt nämlich während der Vermehrungsphase dieser Hefen die Redoxzahl an und schließlich wird sogar Schwefelwasserstoff frei (der Praktiker sagt „der Wein böcksert“). Man wird dabei an die denitrifizierenden und desulfi-

tierenden Bakterien im Erdboden erinnert, welche in der Lage sind von Nitrat- oder Sulfationen den zum Leben notwendigen Sauerstoff zu „demontieren“. Haben schließlich die Sulfithefen in der Angärungsphase das Redoxniveau langsam auf eine bestimmte Höhe gebracht, dann beginnt schlagartig die Gärung einzusetzen. Sie schaffen sich anscheinend zuerst gleichsam ein Sprungbrett, ein Redoxgefälle, von dem aus sie erst gären d. h. reduzieren können. Diese Verhältnisse befinden sich zur Zeit erst in wissenschaftlicher Bearbeitung.

2. Der Faktor: Stickstoffgehalt bei der Weingärung

Schon Müller-Thurgau hat nachgewiesen, daß der Stickstoffgehalt normaler Traubenmoste den Bedarf der Hefe für 4–5 Gärungen decken kann. Die Versuchsanordnung Müller-Thurgaus war folgende: nach der ersten Gärung trennte er den Wein von der Hefe, destillierte den Alkohol ab, setzte wieder soviel Zucker zu wie der Most vorher hatte und impfte diesen entgeisteten und aufgezuckerten Wein wiederum mit Hefe. Dies konnte er je nach der Natur des Mostes 3–5 mal hintereinander wiederholen, erst danach vermochte die Hefe infolge Stickstoffmangels nicht mehr zu gären.

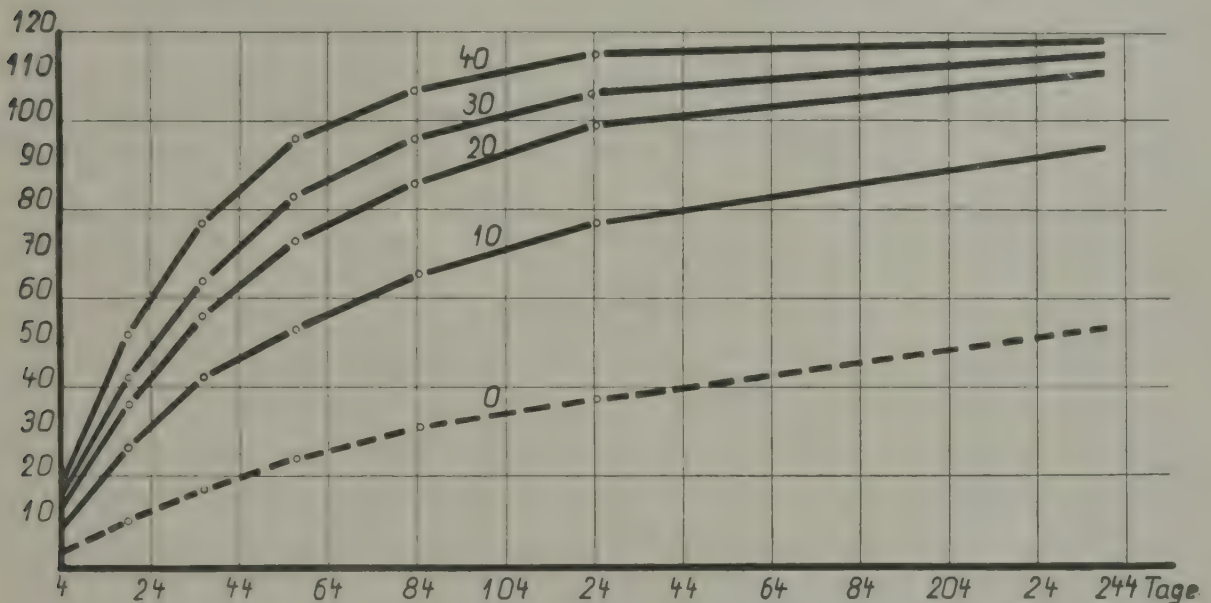


Abb. 84. Die Vergärung eines Heidelbeermostes bei Zugabe von 0–40 g Ammoniumphosphat je 100 Liter (nach P. Kulisch).

Anders liegen die Verhältnisse in Mosten von stark mit Schimmelpilzen befallenen Trauben. Hier kann ein so großer Teil des Stickstoffes der Traubenbeere im Plasma der Pilzhypen in Form von unlöslichem Eiweiß festgelegt sein, daß der Gehalt des Saftes an löslichem Stickstoff, wie ebenfalls Müller-Thurgau nachwies, auf die Hälfte des ursprünglichen Gehaltes zurückgeht. Aber selbst in solchen extremen Fällen ist der restliche Stickstoff meist noch für eine normale Stickstoffernährung der Hefe ausreichend.

Von allen Früchten, die zur Weinbereitung Verwendung finden, bringen lediglich Heidel- und Preiselbeeren zuweilen auch wilde Brombeeren, ungenügende Mengen von der Hefe assimilierbaren Stickstoffs mit. Daher wird die Vergärung der Heidelbeermoste (Preiselbeeren werden in Deutsch-

land äußerst selten auf Wein verarbeitet, dagegen in Finnland) durch Zusatz von Ammoniumsalzen erheblich gefördert, wie aus den Diagrammen hervorgeht, die nach Zahlenangaben einer Arbeit von P. Kulisch: „Über den Zusatz von Ammoniumsalzen bei der Vergärung von Obst- und Traubenweinen“ (Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. 29, Heft 1, 1908) gezeichnet wurden. Welches Ammoniumsalz, ob Chlorid, Sulfat, Tartrat und Phosphat, dabei verwendet wird, spielt gerade keine ausschlaggebende Rolle. Jedoch scheint phosphorsaures Ammonium häufig günstiger zu wirken als die anderen Ammoniumsalze (siehe Abb. 85). Ammoniumkarbonat ist wegen seiner entsäuernden Wirkung weniger empfehlenswert. Die Höchstmenge der N-Düngergabe¹⁾ für die Hefe in Heidelbeersäften ist 40 g je 100 Liter.

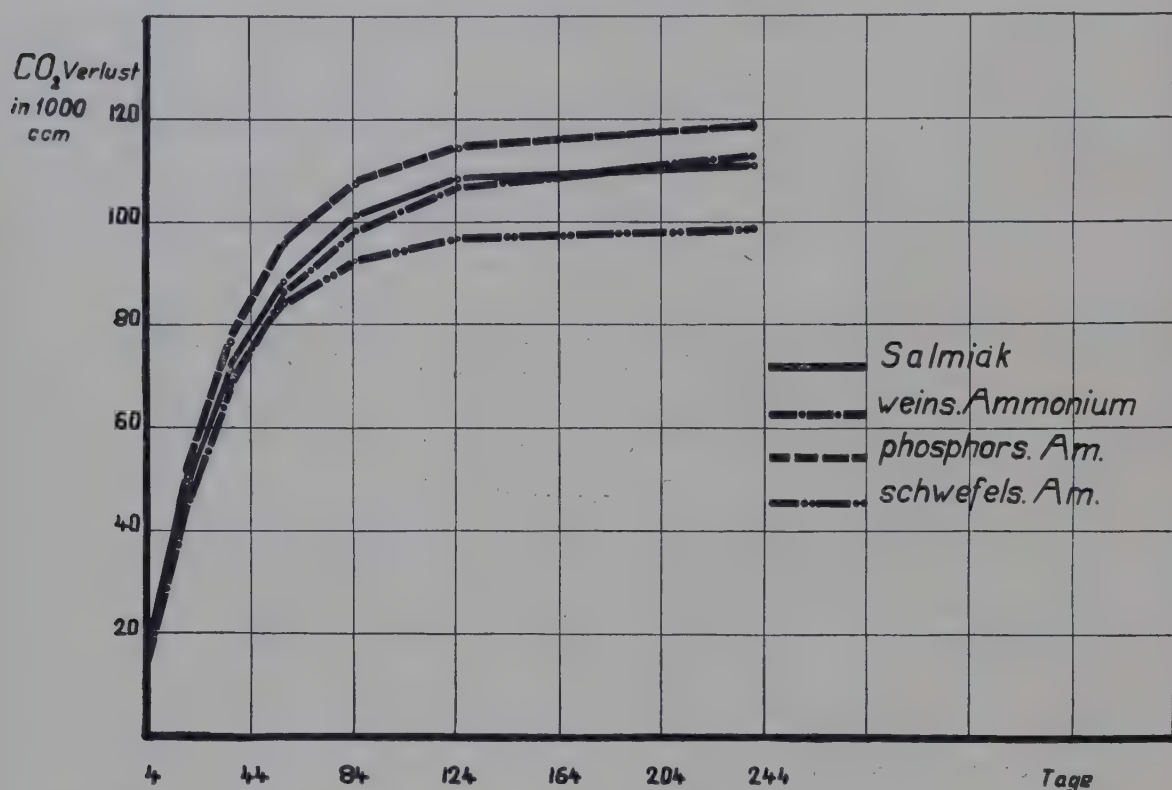


Abb. 85. Vergleich der Wirkung gleicher Konzentrationen 4 verschiedener Ammoniumsalze auf die Gärung eines Heidelbeermostes. Am wirksamsten ist Ammoniumphosphat. (Nach P. Kulisch.)

Bei den übrigen Obstsäften kann ein Stickstoffmangel nur bei unvernünftig starker Verdünnung der Säfte durch Zuckerwasserzusatz eintreten.

P. Kulisch hat in der oben zitierten Arbeit auch die Frage der Stickstoffzugabe bei Umgärung von Traubenwein experimentell studiert. Er kam zu dem Ergebnis, daß auch hier eine N-Düngung der Hefe überflüssig ist.

Trotzdem hat man bis in die Zeit des 2. Weltkrieges hinein bei Schaumweingärungen vielfach die Zugabe von Ammoniumsalzen zwecks besserer N-Ernährung der Hefe empfohlen und getätigt. In das deutsche Weingesetz wurde eigens der Zusatz stickstoffhaltiger Gärsalze bei der Schaumweinbereitung als erlaubte Maßnahme aufgenommen.

Der Verfasser hat 1942 die Frage der N-Düngung der Hefe bei der Schaumweingärung einer experimentellen Bearbeitung unterworfen. Zur Verwendung

¹⁾ N = Abkürzung für Stickstoff.

kamen 2 Rheingauer Weine, der eine mit 620 mg, der andere mit 635 mg Gesamt-N-Gehalt. Der Wein wurde, wie es in der Schaumweinindustrie üblich ist mit 25 g Zucker/l und einer Reihefe versetzt und auf kleine Champagnerflaschen abgefüllt und agraftiert. Gleichzeitig wurden Flaschen nur mit $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{10}$ der betreffenden Weine gefüllt, der von der restlichen Hälfte, $\frac{3}{4}$ oder $\frac{9}{10}$ der Weine abdestillierte Alkohol und Wasser zugesetzt, so daß der Alkohol- und Zuckergehalt in allen Füllungen gleich und lediglich der Stickstoffgehalt auf $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ oder $\frac{1}{10}$ herabgesetzt war. Sodann wurde die Druckbildung verfolgt. Es ergab sich, daß der Stickstoff-Gehalt der Weine für mehrere Gärungen ausreicht hätte. Bei dem einen Wein hatte sogar noch die Füllung mit nur $\frac{1}{10}$ des ursprünglichen N-Gehaltes einen Druck von 5,2 Atm. erreicht.

In zahlreichen N-Analysen von Hefedepots in normalen Schaumweinflaschen von 750 ccm Inhalt, hatten wir in Geisenheim 65–75 mg N festgestellt. Diese Zahlen stellen aber nicht den tatsächlichen N-Bedarf der Hefe bei der Schaumweinflaschengärung dar, da im Hefedepot auch noch feine Trübungsstoffe des Weines niedergeschlagen und enthalten sind. Der wirkliche N-Bedarf der Hefe wird um einige Milligramm niedriger liegen. Der zehnte Teil des N-Gehaltes des einen Versuchsweines betrug 62, des anderen 63,5 mg/l. Die N-Gehalte der Weine betragen bei deutschen Weinen nach Vogt 200–800 mg/l, der Champagnerweine nach Manceau 400–500 mg/l. Diese Zahlen allein hätten sehr wahrscheinlich gemacht, daß der N-Gehalt der Grundweine in allen Fällen, auch bei ungewöhnlich niedrigem Gehalt, für die Ernährung der Hefe bei der Flaschengärung, ausreichen müßte. Die Experimente des Verfassers aber haben schließlich mit aller Klarheit gezeigt, daß eine Zugabe von Ammoniumsalzen zwecks Förderung der Gärung bei der Schaumweinbereitung überflüssig ist.

Der Umstand, daß die Entwicklung und Gärung der Hefe vom Stickstoffgehalt des Gärsubstrates abhängig ist und durch einen Mangel an assimilierbaren Stickstoffsubstanzen eine Gärung verhindert werden kann, wird praktisch bei der Herstellung des italienischen Moscato spumante ausgenützt. Darüber hat C. Mensio¹⁾ interessante biochemische Studien angestellt. Der typische Moscato spumante hat 4–6 Vol. % Alkohol, noch 120–160 g Zucker, nur mehr 30–50 mg Gesamtstickstoff und keinen Ammoniakgehalt mehr. Dies wird dadurch erreicht, daß die Hefen als „eliminatori“ (= Entferner) des Stickstoffs benützt werden, indem jedesmal, wenn die Hefe sich im Most vermehrt hat und zu gären beginnen will, durch Schwefelung, Schönung und Filtration aus dem Most entfernt wird. Sodann wird der blank filtrierte Most erneut mit Hefe beimpft und sowie sie sich wieder vermehrt hat, mit der gleichen Prozedur aus dem Substrat entfernt. Mensio schreibt, daß die Gärung schon langsam verläuft, wenn der Gesamt-N-Gehalt auf 120 mg/l herabgedrückt worden ist. Wenn schließlich die Hefe diesen Betrag noch weiter, auf 30–50 mg/l, gesenkt hat, bleibt der Most gärungsstabil, weil die Hefe die im Most verbliebenen organischen Stickstoffverbindungen nicht assimilieren kann.

Während der Faktor N-Gehalt für die alkoholische Gärung des deutschen Traubenweines und der Fruchtweine (mit Ausnahme des Heidelbeerweines) keine Rolle spielt, spielt er bei den bakteriellen Säuregärungen dieser Weine

¹⁾ Mensio, Carlo: Il moscato spumante. Le Stazioni sperimentali agrarie italiane Vol. 43, Fasc. XI–XII, S. 797–931, 1910.

eine deutliche Rolle, vor allem wenn die N-reichen Weine zugleich säurearm sind. Wie im Kapitel „biologischer Säureabbau“ bereits hervorgehoben wurde, greifen die betreffenden Bakterien nicht allein Äpfelsäure und Zitronensäure, sondern auch organische Stickstoffverbindungen an, wobei Ammoniak entsteht. Je mehr Ammoniak entsteht, um so stärker ist der Säuresturz, da Ammoniak als Base entsäuernd wirkt. Daraus resultiert die bereits von verschiedenen Forschern beobachtete Tatsache, daß Weine von gut mit Stickstoff gedüngten Weinbergen einen flotteren und intensiveren Säureabbau durch Bakterien erleben als solche von nicht oder wenig mit N-gedüngten Reben.

3. Der Faktor: Eisen- und Kupfergehalt

Für den Verlauf der Mostgärung spielt ein hoher, ja sogar sehr hoher Eisen- und Kupfergehalt meist keine Rolle. Lediglich das Hefedepot bekommt in dem einen Falle eine graue bis schwärzliche, im anderen Falle eine kupferrote bis dunkelbraune Farbe. Letztere rührt daher, daß diese Metalle im Protoplasma der Hefe angereichert und gespeichert werden.

a) Eisen

Dagegen kann vor allem höherer Eisengehalt sehr störend bei Umgärungen, z. B. bei der Schaumweingärung¹⁾, wirken. Ich betone kann; denn in den weitaus meisten Fällen stört hoher, oft sogar sehr hoher Eisengehalt nicht. Die Aufklärung dieses „Kann-Falles“ war sehr schwierig und zeit-

rH-Zahlen

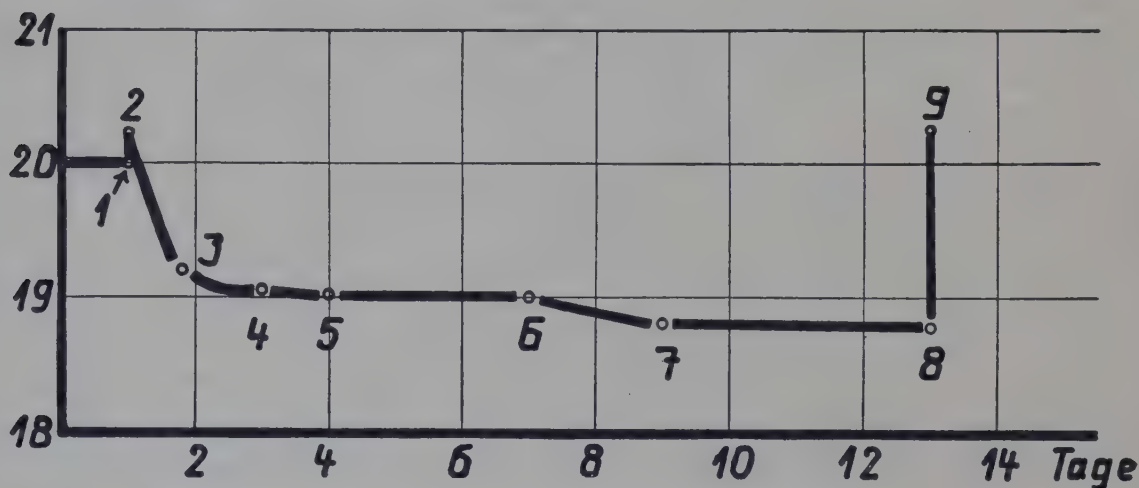


Abb. 86. Der Einfluß der Eisenaufnahme und Eisenentfernung auf die rH-Zahlen eines Weines. 1—2 Blauschönung, 2—8 Eisenaufnahme durch Auflösen von Eisenfeilspänen im Wein, 8—9 erneute Blauschönung.

raubend, und schien lange Zeit unmöglich zu sein. Schließlich stellten sich die Ursachen der Gärhemmung durch Eisen bei Umgärungen einwandfrei bei

¹⁾ Schanderl, H: Kellerwirtschaftliche Fragen zur Schaumweinbereitung. Wein und Rebe, Bd. 20, 1938. — Schanderl, H und H. Schulle: Gärungsstockungen infolge hohen Eisengehaltes bei Umgärungen. Der Deutsche Weinbau. S. 367, 1936.

dem Studium der Redoxpotentiale der Weine heraus. Heute wissen wir, daß es nicht das Eisen an sich ist, das Gärhemmungen verursacht, sondern ein zu niedriges Redoxpotential, an dem allerdings das Eisen selbst auch beteiligt ist. Ist jedoch das Redoxpotential höher, so stören selbst große Mengen gelösten Eisens nicht. Also nur in umzugärenden Weinen mit verhältnismäßig niedrigen Redoxzahlen wirkt Eisen bei Umgärungen hemmend.

In eine niedrige Redoxstufe kann ein Wein gelangen, wenn er mehrere Gärungen hinter sich hat (nach der eigentlichen Mostgärung verbessert, d. h. aufgegonen wurde), einen starken biologischen Säureabbau erlebte, öfters kräftig geschwefelt wurde und schließlich noch mit blankem Eisen in Berührung kam. Das zweiwertige Eisen hat das Bestreben in die dreiwertige Form überzugehen und wirkt so ebenfalls reduzierend. Wird das Eisen durch Blauschönung (Möslingerschönung) aus dem Wein entfernt, so wird dadurch die Redoxzahl des Weines so gehoben, daß sich der Wein ohne Verzug angären

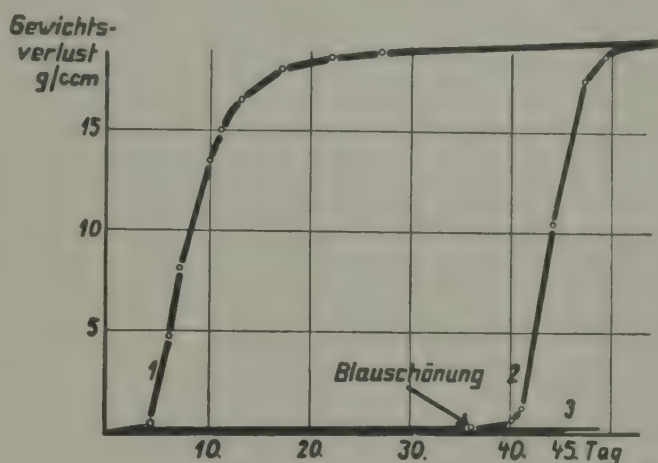


Abb. 87. Die Umgärung eines Weines 1 = ohne Eisen, 2 und 3 mit 25,8 mg Eisen/Liter. In Versuch 2 wurde am 35. Tag der Eisengehalt durch Zugabe von Ferrozyankali auf 5,8 mg/Liter reduziert. Prompt setzte ohne erneuten Hefezusatz die Gärung nach wenigen Tagen ein, während der Versuch 3 weiterhin „stumm“ blieb.

läßt. Denselben Effekt könnte man erreichen, indem man den Wein stark belüftet. Dadurch steigt die Redoxzahl des Weines über das kritische Niveau und die Hefe vermag daraufhin zu gären.

Für die Praxis ist jedoch weit empfehlenswerter, den umzugärenden Wein blauzuschönen, weil dadurch noch mehrere Vorteile für den Wein verbunden sind. Es wird nämlich nicht allein dadurch die Redoxzahl gehoben, sondern die spätere Gefahr des schwarzen, grauen oder weißen Bruches vermieden und mit der Schönung zugleich feinste Trübungsbestandteile, labile organische Stickstoffverbindungen entfernt. Abb. 87 zeigt den Fall, indem sich ein Wein mit 25,8 mg Eisen im Liter nicht angären ließ. Am 35. Tag wurde soviel Ferrozyankalium zugegeben, daß der Eisengehalt auf 5,8 g/l vermindert wurde. Prompt kam er innerhalb von 5 Tagen in lebhafte Gärung.

Bei der Umgärung eisenhaltiger Weine kann man noch eine weitere interessante Erscheinung beobachten, nämlich die Farbe des Hefedepots. Letzteres fällt nämlich in blaugrauer bis schwärzlicher Farbe an. Dies rührt daher, daß das Eisen durch die Zellmembran hindurch vom Protoplasma der Hefezelle absorbiert wird. Durch zu starke Eisenaufnahme tritt schließlich eine Vergiftung der betreffenden Hefezelle ein und sie stirbt frühzeitig ab. Ein Teil scheint direkt in Form von Eisensulfid festgelegt zu werden. Die Eisenabsorption der Hefe kann man färberisch und analytisch nachweisen.

Färberisch dadurch, daß man die Hefe zunächst mit Jodkalium gelblich färbt und sodann eine Lösung von Ferrozyankalium mit etwas Salzsäure einwirkt (läßt¹⁾). Man sieht dann, daß das Hefeplasma, welches Eisen enthält, eine blaue bis grüne Farbe annimmt, während die jugendlichen Hefezellen gelb bleiben.

Analytisch läßt sich die Eisenabsorption der Hefezellen nachweisen, indem man sie zuerst in aqua destillata wäscht und dann verascht.

Wie nachstehende Tabelle zeigt, wandert gerade bei Umgärungen 36,2% des ursprünglich im Wein gewesenen Eisens in die Hefezellen. Bei Mostgärungen wurde bis 41,2% des Eisens im Hefedepot festgelegt.

Mostgärungen	Eisengehalt der Gärflüssigkeit		Unterschied in mg	in der Hefemasche gefunden mg	Eisenabsorption der Hefe in % des Ausgangsweins
	vor der Gärung	nach der Gärung			
	103,6	97	6,6	7,1	6,9
24	13	11	9,9	41,2	

Umgärungen	27,5	10,2	17,3	—	62
	27,5	11,0	16,5	14,7	53,4
	16,6	9,0	7,6	7,5	45
	16,6	8,5	8,1	8,0	48
	9,4	6,4	3,0	3,0	32,5

Die Hefe vermag also offensichtlich bis zu einem gewissen Grade ein eisenhaltiges Wein zu „enteisen“. Mit der Verminderung des Eisengehaltes steigt die Redoxzahl und so fängt oft ein eisenhaltiger Wein, der umgegoren werden sollte, nach anfänglicher Gärhemmung urplötzlich zu gären an. Die ersten Hefegenerationen absorbierten allmählich das Eisen, hoben die Redoxzahl, so daß ab einem gewissen Zeitpunkt die jüngsten Hefezellen eine für die Gärungsarbeit günstigere Situation vorfinden als für die Aussaathefe bestand.

b) Kupfer als Störungsfaktor

Kupfer kann sich in Wein nur bei Gegenwart von Sauerstoff, also in einem Wein mit hoher Redoxzahl, lösen. Normaler Wein, vor allem Sauerwein, haltiger Wein, vermag metallisches Kupfer kaum zu lösen. Daher spielt Kupfer als Störungsfaktor sehr selten in der Praxis eine Rolle. Trotzdem ist

¹⁾ Das im Hefeplasma festgelegte Eisen kann auch mit dem Zeiß'schen Mikropolychromar sichtbar gemacht werden, nachdem die Hefezellen einige Minuten in einer 5%igen Lösung von Ferrozyankalium und Salzsäure lagen. Weiterhin kann der sehr empfindliche Eisenindikator „Bromoxin“ — 5,7 Dibrom-8-oxychinolin in 1%iger Lösung verwendet werden, der mit Eisen eine grüne bis schwarze Komplexverbindung liefert.

schon vorgekommen, daß uns ein Wein mit 240 mg/l Kupfer eingesandt wurde, der sich nicht umgären ließ. Es stellte sich heraus, daß dieser unterschwefelte Wein längere Zeit mit schlechten Filtersieben in Berührung stand und dabei so ungewöhnlich viel metallisches Kupfer aufnahm.

Diesem Wein wurde stufenweise durch Blauschönung Kupfer entzogen. Das Kurvenbild in Abb. 87 zeigt, daß er mit fallender Kupfermenge immer mehr in Gärung kam. Die Kurve mit 15 mg Kupfergehalt deckte sich mit der Kontrollkurve (Wein ohne Kupfer). Das Hefedepot nahm eine kupferfarbene Tönung an und es zeigte sich, daß einerseits an der Hefefläche sich ein feiner Kupferniederschlag bildete und andererseits Kupfer vom Hefeplasma absorbiert wurde.

Einfluss hohen Kupfergehaltes auf Umgärungen

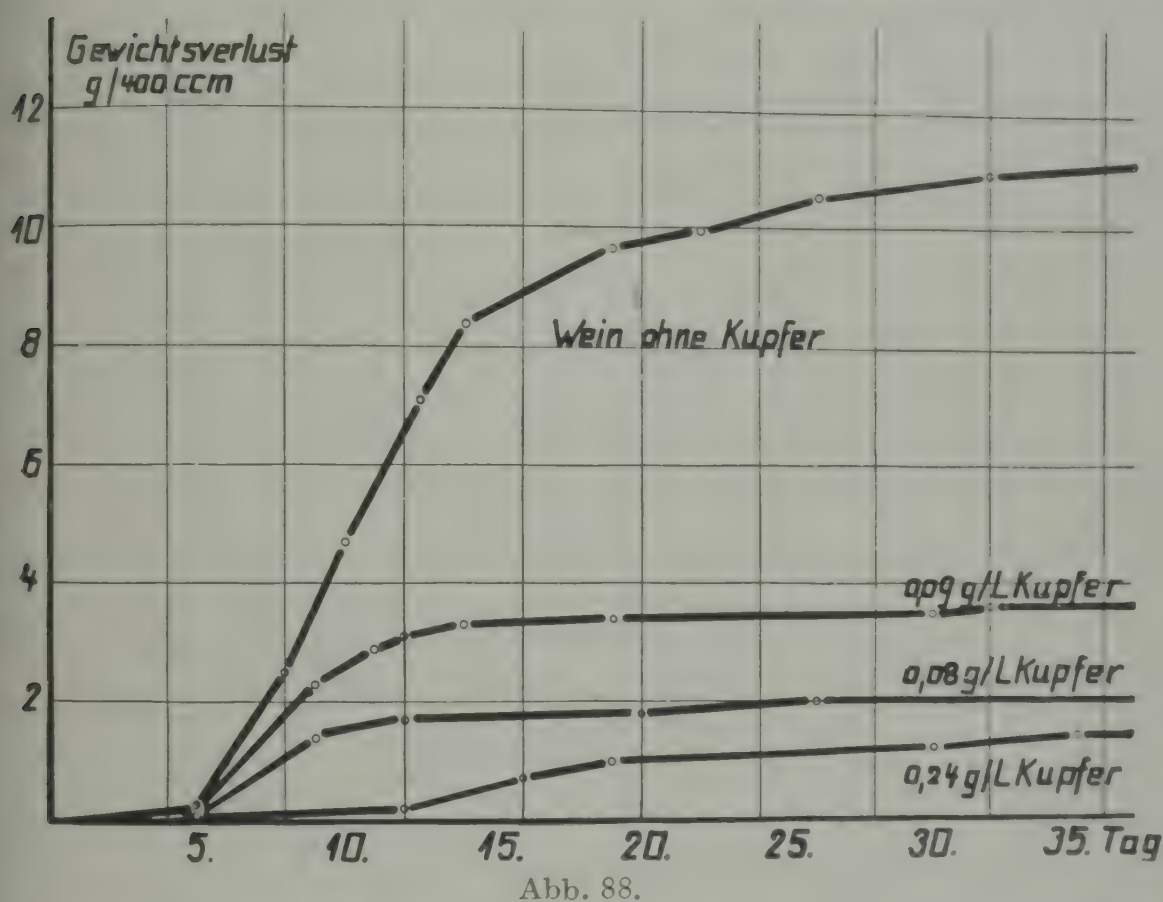


Abb. 88.

Die Gesamtmenge des gelösten Kupfers liegt nach den Untersuchungen von Ribéreau-Gayon¹⁾ im Wein in Cupri-Form (also in zweiwertiger Form) vor, da das Cupro-Ion in der normalen Redoxstufe des Weines nicht löslich ist. Durch die Reduktionsvorgänge bei der Hefegärung wird die Redoxstufe des Mostes gesenkt, das vorher im Most gelöste Kupfer der zweiwertigen Form wird in die Cuproform verwandelt, da es aber in dieser Form nicht in Lösung bleiben kann, fällt es aus. Die Hefegärung führt daher normalerweise zu

¹⁾ Ribéreau-Gayon: Le cuivre des mouts et des vins. Ann. Falsificat. et Fraudes, Bd. 28, S. 349, 1935. — Pierre, L.: Oxydations et reductions. Brasseur Français. Jahrg. 1938. Nr. 5, S. 116.

einer weitgehenden Kupferausscheidung im Wein. Meist wird das Kupfer in Form von Kupfersulfid niedergeschlagen. Ribéreau-Gayon hat in seinen Untersuchungen weiterhin gezeigt, daß bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eisen und Kupfer im Wein die Reduktion des Ferri-Ions schneller erfolgt als diejenige des Cupri-Ions. Die gleichzeitige Gegenwart von Kupfer erhöht die Oxydationskraft des Eisens. Cupri- und Ferri-Ionen können im Most oder Wein die Rolle von Sauerstoffdonatoren spielen. Sie bewirken eine langsame Oxydation gewisser Weinbestandteile, welche als Sauerstoffakzeptoren fungieren. Auch für die Hefezellen können bei Sauerstoffmangel die Ferri- und Cupri-Ionen als Sauerstoffdonatoren dienen.

T. Clemm hat 1939 (Centralblatt für Bakteriologie Abt. II, Bd. 101 S. 287—324) den Einfluß von blankem Kupfer auf die Hefegärung in künstlichen Substraten studiert. Es zeigte sich, daß bei einer Zuckerkonzentration von 20% aufwärts keine Kupferschädigungen mehr zu verzeichnen waren. Ein geringer Zusatz von organischen Stoffen zu den künstlichen Nährlösungen setzte die Wirksamkeit des Kupfereinflusses herab. Diese an künstlichen Medien gemachten Feststellungen bestätigen indirekt unsere an Obst- und Traubenmosten gemachten Erfahrungen, die man dahingehend zusammenfassen kann, daß Kupfer nur in ganz extremen Fällen als Störungsfaktor bei Gärungen natürlicher Substrate auftritt.

4. Der Faktor: Gerbstoffgehalt

Bei der Bereitung von Traubenweinen gelangt je nach Art der Kelterung, vor allem wenn die Trauben nicht entrappt werden, ein Teil des in den Samen, Beeren- und Traubenstielen enthaltenen Gerbstoffs in den Wein. Wohl am meisten bei der Rotweibereitung, weil hier der Most auch noch bei der Gärung mit der „Maische“ in Berührung bleibt.

Sehr gerbstoffreich sind die Früchte von *Sorbus domestica*, die Speierlinge, die in manchen Gegenden dem ländlichen Apfelmost zwecks Erzielung einer besseren Haltbarkeit zugesetzt werden. Auch die Weine von sog. „Mostbirnen“ können zuweilen sehr gerbstoffreich sein.

Wenn nun ein gerbstoffreicher Most oder Wein nicht restlos durchgärt, wird häufig von den Herstellern vermutet, daß daran der Gerbstoffgehalt schuld sein könnte. Andererseits war und ist es in der Praxis der Schaumweibereitung üblich, dem Wein vor der Flaschengärung etwas Tannin zuzusetzen, weil es eine fördernde Wirkung auf die Depotbildung der Hefe haben soll.

Aus diesen Gründen war es angebracht experimentell zu prüfen, wieweit der Faktor Gerbstoffgehalt bei der Umgärung von Trauben- und Obstmosten eine Rolle spielt. Die entsprechenden Versuche haben 2 Tatsachen aufgezeigt:

1. Zwischen Tannin und Tannin bestehen große Unterschiede. Die Bezeichnung Tannin umfaßt Gerbstoffe der verschiedensten pflanzlichen Herkunft. Das eine Tanninpräparat wirkt auf die Hefe ab bestimmter Dosierung fördernd, das andere hemmend. Für gärungsphysiologische Zwecke müßte die Bezeichnung Tannin strenger definiert sein. Man müßte wissen, ob es sich um Eichen-, Quebracho-, Schlehenrinde- oder sonstiges Tannin handelt.
2. Die Vertreter der Hefegattung *Saccharomyces*, zu der alle unsere Kulturheferassen zählen, erwiesen sich als bedeutend gerbstoffresistenter als

die sog. „wilden“ Hefen der Gattung *Kloeckeraspora*. Die Hefen verhalten sich also gegenüber Gerbstoff recht unterschiedlich.

Wie die Abb. 89 zeigt sind Gärverzögerungen bei einer Kulturhefe erst bei Gerbstoffmengen ab 2 g/Liter zu erzielen. Solche Mengen Gerbstoff treten höchstens in unverdünnten Speierling- und Schlehensäften auf. Aber selbst diese lassen sich mit Kulturhefen ohne Schwierigkeiten vergären. Erst Gerbstoffmengen von 10 g/Liter wirken auf die Hefen schädigend und schließlich tödend.

Charakteristisch für den Verlauf der Gärkurven bei höheren Tanningaben ist, daß nach stürmischer Angärung, die Kurven plötzlich verflachen. Die Gärung wird plötzlich ab gewissem Alkoholgehalt verlangsamt. Das be-

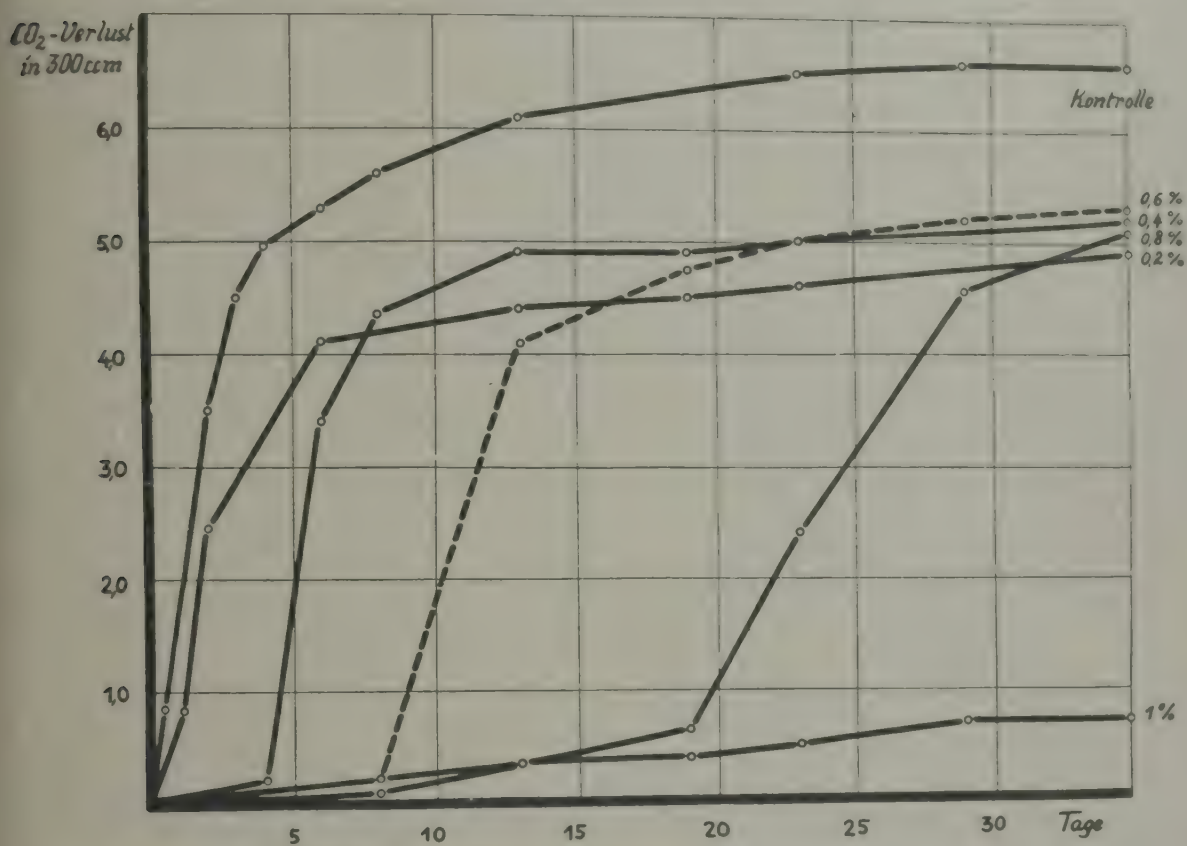


Abb. 89. Der Einfluß verschiedener Mengen von Tannin auf die Gärung der Heferasse *Champagne Epernay*.

sagt, daß nicht der Gerbstoff an sich zunächst die Hefe irritiert, sondern Gerbstoff in Verbindung mit Alkohol, der ja die Permeabilitätsverhältnisse der Hefemembran empfindlich ändert.

Überraschend ist, daß die wilden Hefen, wie Abb. 90 zeigt, schon von Tanningmengen in ihrer Gärungstätigkeit gehemmt werden, welche einer Kulturhefe noch wenig schaden. Bei Gerbstoffzugabe zu einem spontan gärenden Substrat tritt also eine selektive Wirkung ein. Die eine Hefegruppe wird davon stärker betroffen und in ihrer Entwicklung gehemmt. Aus der Beobachtung von solch selektiver Wirkung, erkenntlich an einem reineren Gärton, mag wohl die Gepflogenheit des Gerbstoffzusatzes in Apfelweingegenden entstanden sein. Daß man aber die beobachtete Gerbstoffwirkung keineswegs

verallgemeinern darf, zeigten die Ergebnisse eines Versuches, bei dem verschiedene Gerbstoffherkünfte geprüft wurden. Der eine Gerbstoff fördert, der andere hemmt die *Apiculatus*-Hefe.

Die in der Schaumweinindustrie üblichen Zusätze von 0,002–0,005 Tannin haben auf den Gärverlauf keinen meßbaren Einfluß. Diese Gaben können lediglich die Art der Depotbildung und die Rüttelfähigkeit der Hefe, die sich bisher messend oder wägend nicht erfassen ließ, beeinflussen.

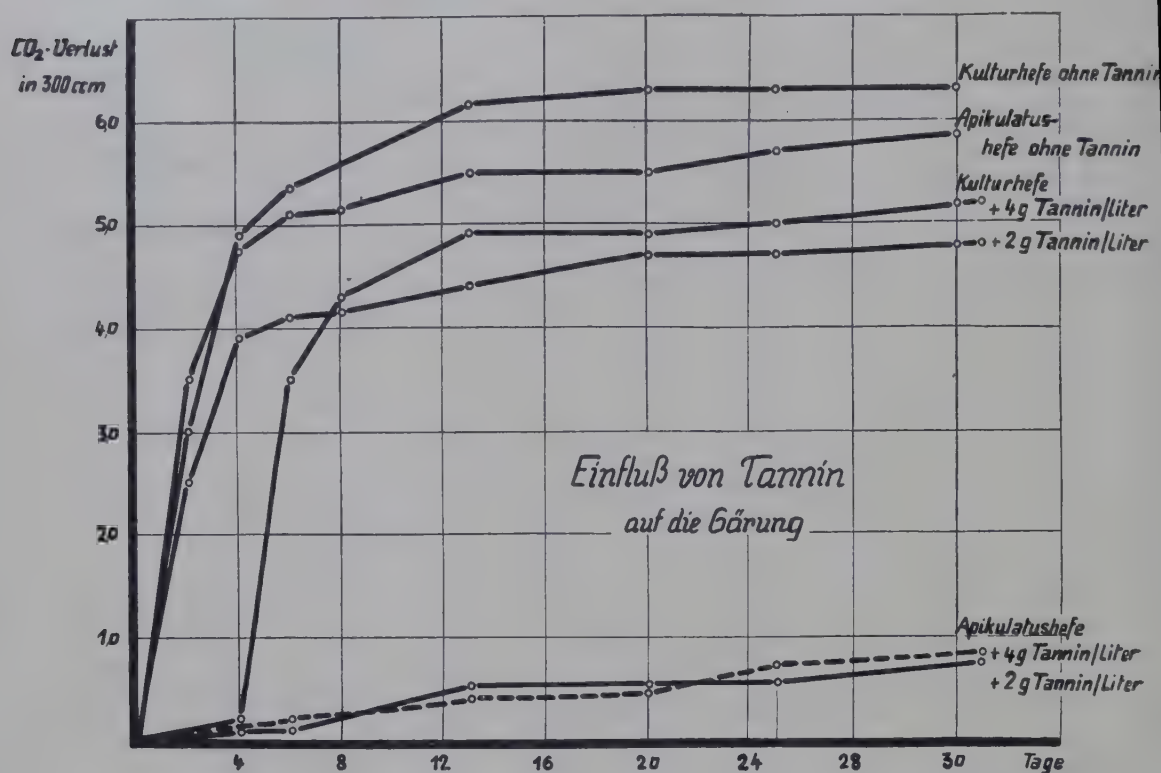


Abb. 90.

5. Der Faktor: Essigsäuregehalt

In Jahren mit sehr regnerischem Herbstwetter kommt es vor, daß sauerfaule, d. h. von Essigsäurebakterien angegriffene, verletzte Trauben geerntet werden. Dadurch erhält der gekelterte Most einen unerwünschten, die Qualität des zukünftigen Weines herabdrückenden und ab gewissen Mengen Essigsäure sogar die Gärung verzögernden Gehalt an Essigsäure. Daher ist es praktisch wichtig zu wissen, wie und ab welcher Menge, Essigsäure ungünstig auf die alkoholische Gärung einwirkt.

Außerdem ist es üblich, leicht an Essigstich erkrankte oder aus sonstigen Gründen nicht befriedigende, leichte Weine „auf- oder umzugären“. Auch hierbei ist es, abgesehen von den weingesetzlichen Bestimmungen, wichtig zu wissen, wieviel Essigsäure man Hefen bei Umgärungen zumuten darf. Nach dem deutschen Weingesetz darf ein Weißwein mit mehr als 1,2 g Essigsäure je Liter und an Rotwein mit mehr als 1,6 g Essigsäure im Liter nicht mehr umgegoren werden.

Wie die Kulturhefe auf Essigsäure bei gleichzeitiger Anwesenheit von Alkohol reagiert, zeigen die in Abb. 91 dargestellten Versuche. 1 g Essigsäure im Liter ergeben bereits einen deutlich erkennbaren Gärverzug, der End-

vergärungsgrad wird noch nicht beeinflusst. Bei 2 g Essigsäure im Liter dagegen ist der Gärverzug schon bedeutend und der Endvergärungsgrad herabgedrückt. 3,2 g Essigsäure im Liter verursachen schon einen Gärverzug von 37 Tagen und die Hefe kann nur $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{3}$ des Gärpensums leisten. Daraus ergibt sich die Schlußfolgerung, daß es außerdem von schlechten Fachkenntnissen zeugt, wenn jemand verbotenerweise dennoch einen Wein von mehr als 1,2 oder 1,6 g Essigsäuregehalt umgären will und sich über die schlechte Leistung der Hefe beim Hefelieferanten beschwert.

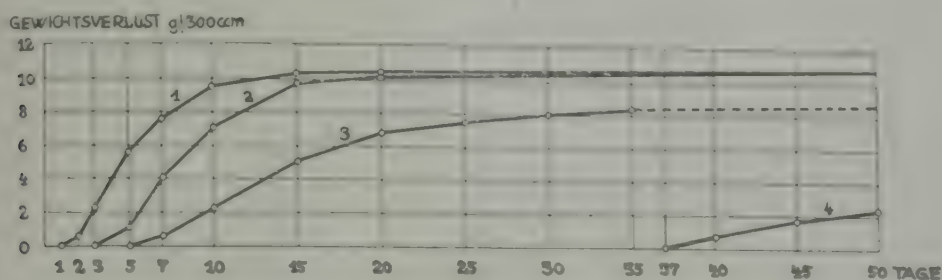


Abb. 91. Ein Umgärungsversuch bei steigendem Essigsäuregehalt. 1 = 0,2, 2 = 1,05, 3 = 2,02, 4 = 3,17 g Essigsäure/Liter.

Über den Einfluß der Essigsäure auf den zeitlichen Verlauf der Wein-gärung hat bereits 1885 Müller-Thurgau berichtet. Dabei studierte er vor allem den Einfluß der Essigsäure auf die Bildung von Hefetrockensubstanz und bekam folgende Ergebnisse:

	ohne Lüftung	mit Lüftung
	g je Liter	g je Liter
Most ohne Essigsäure	2,28	6,56
Most + 2 ‰ Essigsäure	1,76	4,26
Most + 4 ‰ „	1,17	3,25
Most + 6 ‰ „	0,73	1,87
Most + 8,5‰ „	keine	wenig

Auch aus diesen Zahlen Müller-Thurgaus ist der schädigende Einfluß der Essigsäure auf das Wachstum der Hefe klar ersichtlich.

Die einzelnen Hefegattungen verhalten sich gegenüber Essigsäure allerdings sehr verschieden. So vertragen die Gattungen *Saccharomyces* und *Schizosaccharomyces* wesentlich mehr als die Gattung *Saccharomyces*. So berichtete K. Kroemer¹⁾ 1933 über eine Rasse von *Saccharomyces Ludwigii* var. vini, welche noch bei Anwesenheit von 22 g Essigsäure im Liter lebhaft gär. *Schizosaccharomyces* Pombe wird nach Lüers²⁾ zusammen mit dem Essigbakterium *B. xylinum* in gezuckerten Teeaufgüssen als „Kombouchapilz“ gezogen.

¹⁾ Bericht der Lehr- und Forschungsanstalt Geisenheim, 1931/32.

²⁾ Lüers „Gärungsgetränke“, Verlag Hans Carl, Nürnberg, 1949.

6. Der Faktor: Kohlensäure, bzw. CO_2 bei Gärungen

Es ist nicht gleichgültig, ob die Hefen in einem zuckerhaltigen Nährmedium bereits CO_2 vorfinden oder nicht, oder ob das von den Hefen erzeugte CO_2 frei entweichen kann oder nicht. So fanden die Bierbrauerei-Mykologen,

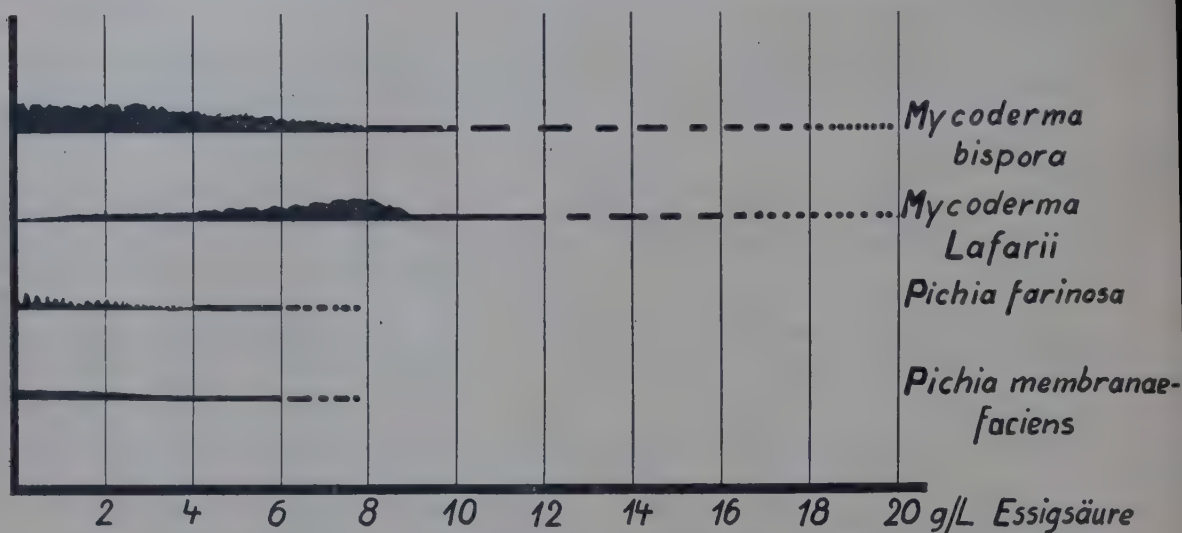


Abb. 92. Das Wachstum von Kahlhefen in Essigsäuregegenwart. *Mycoderma* verträgt bis 20 g/Liter, *Pichia* nur bis 8 g/Liter.

daß im Bier Mengen von 0,35—0,45 Gewichtsprozent die Hefevermehrung praktisch hemmen. Für Wein sind nach Müller-Thurgau und anderen Autoren schon 0,25 Gewichtsprozent CO_2 imstande, die Hefevermehrung zu hemmen. Die Frage, welche Mengen und in welchem Maße CO_2 die Hefe-

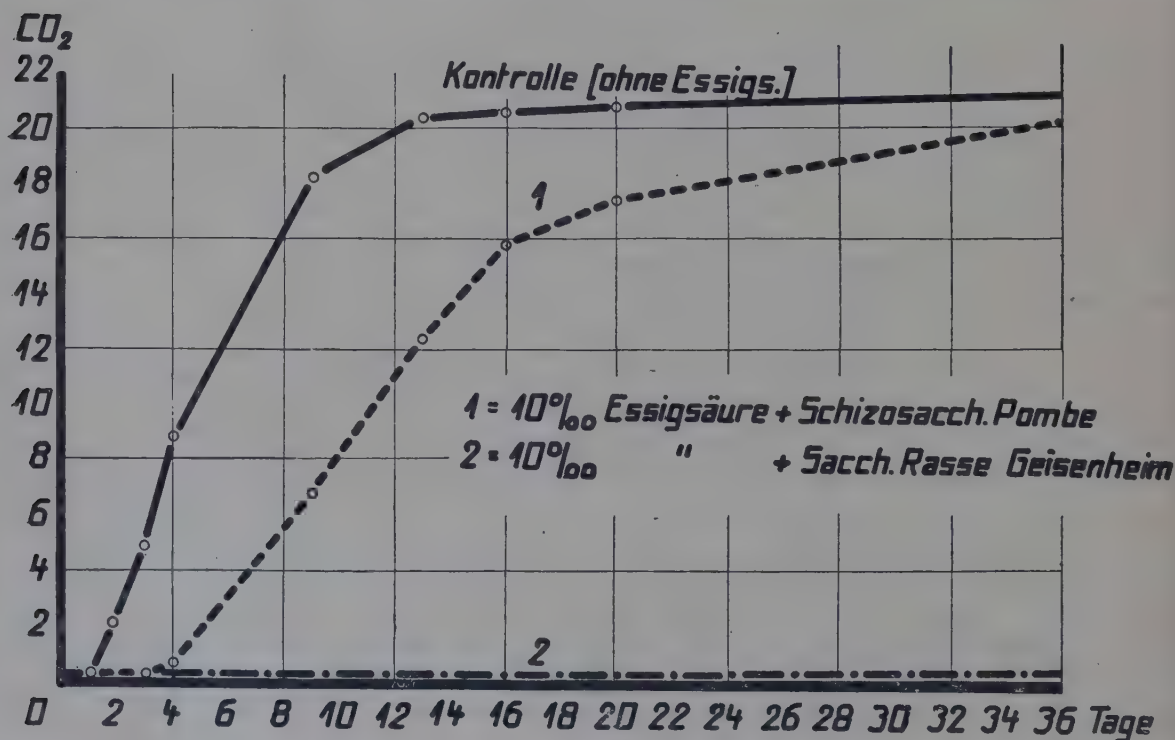


Abb. 93. Während die Gattung *Saccharomyces* bei 10% Essigsäuregehalt keine Gärung mehr zustande bringt, gärt *Schizosaccharomyces* noch beinahe normal.

vermehrung und ihre Alkoholbildung beeinflussen, ist in den letzten 2 Jahrzehnten durch das Aufkommen der Süßmostindustrie, welche nach dem Böhi-Seitz-Verfahren arbeitet, akut geworden. Zu dieser Frage hat F. Schmitthenner¹⁾ (1945) wertvolle, experimentell fundierte Beiträge hinterlassen, welche H. Schulle redigierte und 1949 der Öffentlichkeit zugänglich machte.

Die Schmitthennerschen Untersuchungen brachten folgende Ergebnisse:

1. Die Vermehrung der Hefe wird erst bei einem CO_2 -Gehalt von 1,5 g/l unterbunden, was einem Überdruck von 7,7 atü entspricht.
2. Die Alkoholbildung der Hefe wird durch CO_2 nicht in gleichem Maße wie ihre Vermehrung beeinträchtigt. Der Zymasekomplex arbeitete weiter, auch wenn der Überdruck bis nahezu auf das Doppelte gesteigert wurde.
3. Die Hefevermehrung wurde auf alle Fälle durch Sättigung der Trauben- und Obstsäfte mit 1,5 Gewichtsprozent CO_2 vollständig unterbunden, ganz gleich, ob viel oder wenig, junge oder ältere Hefe eingesät wurde. Dagegen nahmen die Alkoholmengen mit steigender Hefeinsaat zu. Daraus leitet Schmitthenner die praktische Forderung ab, daß die Säfte bei dem Böhi-Seitz-Verfahren keimarm gelagert werden müssen.
4. Entgegen der Ansicht, daß die Hefe schon durch längere Einwirkung eines Kohlensäuresättigungsdruckes von 8 atü abgetötet würde, konnte Schmitthenner in eigens konstruierten Druckgefäßen aus Stahl nachweisen, daß dies erst bei einem Sättigungsdruck von 30 atü der Fall ist. Es ist ein Irrtum, daß man nach einer gewissen Zeit den CO_2 -Druck in den Tanks unter 8 atü herabsetzen könnte, wie häufig in der Praxis angenommen wurde.
5. Alle untersuchten Hefearten und -rassen, auch ausgesucht hochgärrige Rassen, zeigten eine übereinstimmende Empfindlichkeit gegenüber CO_2 -Überdrucken. Alle stellten bei 1,5 Gewichtsprozent gelöster Kohlensäure ihr Wachstum ein.
6. Einwandfrei zeigten Schmitthenners Untersuchungen, daß die Entwicklung der Milchsäurebakterien in Fruchtsäften mit 1,5 Gewichtsprozent CO_2 nicht gehemmt wird. Die Säfte kamen trotz der CO_2 -Imprägnierung in lebhaften Säureabbau. Ja, interessanterweise wurde in einigen Versuchen unter CO_2 -Druck sogar mehr Säure abgebaut als ohne CO_2 -Druck. Diese bisher einzig dastehenden Untersuchungen Schmitthenners sind für die Praxis der Süßmostindustrie außerordentlich wertvoll. Sie zeigen, daß man sich in bezug auf Verhalten der Hefen und Bakterien gegenüber CO_2 -Überdrucken nicht ganz richtigen oder sogar falschen Vorstellungen hingegeben hat.

C. Biologische Faktoren

1. Spontangärung — Reingärung

Unter Spontangärung versteht man die „Selbstgärung“, d. h. die Gärung vollzogen von der vom Gärgut von selbst, von Natur, mitgebrachten

¹⁾ Schmitthenner, F.: Die Wirkung der Kohlensäure auf Hefen und Bakterien. Der Weinbau, Wissenschaftl. Beilage, 3. Jahrg., Nr. 6, Mainz, 1949.

Mikroflora. Unter Reingärung versteht man eine Gärung, welche in der Hauptsache von einer zugesetzten Reinkultur eines Mikroorganismus vollzogen wurde. Dabei kann die Reingärung eine absolute und eine relative sein. Eine absolute Reingärung liegt vor, wenn das Gärsubstrat vorher entweder durch EK-Filtration oder durch Erhitzung (Pasteurisation) keimfrei gemacht wurde. Eine relative Reingärung liegt vor, wenn z. B. die Kulturhefe in einer so großen zahlenmäßigen Überlegenheit gegenüber der wilden Mikroflora zugesetzt wurde, daß sie praktisch fast allein die ganze Gärung vollzieht. Eine sog. „Sulfitgärung“ kann ebenfalls als eine „relative“ Reingärung aufgefaßt werden, weil durch die SO_2 -Zugabe die Konkurrenz der wilden Mikroflora für die zugesetzte „Sulfithefe“ weitgehend ausgeschaltet wird.

Unsere heutigen Biere werden durch eine absolute Reingärung gewonnen, während die Mehrzahl der Trauben- und Apfelweine aus einer Spontangärung hervorgehen.

Die Gründe, weswegen unter normalen Verhältnissen und bei Anfall eines gesunden Lesegutes in den Weinbaugebieten Traubenmoste spontan gären und spontanvergoren, gesunde, ja sogar herrliche Weine ergeben, liegen in der Tatsache, daß sich im Laufe der Zeit in den Rebenpflanzungen im Boden eine reiche „Zuckerpilzflora“ einstellte, bei der die gärtüchtige Gattung *Saccharo-*

myces fast immer und stark beteiligt ist. Die Trauben, vor allem die tieferhängenden, bringen reichlich Hefen mit.

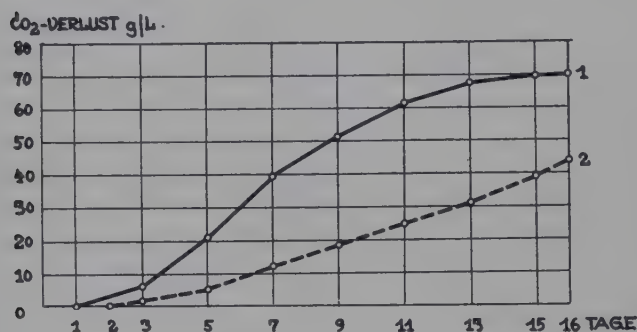


Abb. 94. Eine gezuckerte Johannisbeermasse in Versuch 1 mit Reinhefe versetzt, in Versuch 2 einer Spontangärung überlassen. (Nach Müller-Thurgau.)

Etwas anderes ist es aber, wenn die Reben z. B. an einem Haus als Wandspalier gezogen werden oder wenn außerhalb von Weinbaugebieten Johannis- und Stachelbeeren auf Wein verarbeitet werden sollen. Hier können, müssen aber nicht tüchtige Zuckerpilze schon mit den Früchten in die Fruchtsäfte gelangen. Ja, die Erfahrung hat gelehrt, daß sie in der Mehrzahl der Fälle wohl Hefen mitbringen, aber gärschwache, die nicht in der Lage sind, schnell und über 10 Vol. % Alkoholgehalt hinaus zu gären. Daher bleiben Beerenmoste, vor allem, wenn sie Dessertweine ergeben sollen, ohne Zusatz einer gärkräftigen Kulturhefe häufig in der Gärung stecken. Leichten Tischwein, von niedrigem Alkoholgehalt, vermag jedoch auch eine Spontangärung zu liefern. Jedoch ist selbst hier die Anwendung einer Kulturhefe vorteilhaft, weil diese die Gärung flotter und sicherer vollzieht als die spontane Hefeflora, wie der in Abb. 94 wiedergegebene Versuch zeigt. Außerdem wird der von einer selektionierten Kulturhefe gelieferte Wein reintoniger, weil diese bei der Gärung weniger flüchtige Säuren und Essigester erzeugt als die wilden Hefen.

Das Bukett der landläufigen Apfelweine ist selten ein wenigiges oder Apfelbukett, sondern ein Gärbukett der *Apiculatus*-Hefen. Man kann sich

experimentell davon überzeugen, daß z. B. ein reiner Traubenmost vergoren mit „*Apiculatus*-Hefen“ ein Bukett wie ein Landapfelwein erhält, andererseits ein Apfelmost vergoren vor allem mit einer wärmeanspruchslosen „Weinhefe“ ein bedeutend feineres, an Traubenwein erinnerndes Bukett erhält.

So kommen wir zu der praktisch wichtigen Frage:

Wann ist eine Reingärung bzw. die Anwendung einer sog. „Reinhefe“ unbedingt erforderlich, wann empfehlenswert.

Unbedingt erforderlich ist die Anwendung einer Reinhefe:

1. in schlechten Jahren, in denen wegen sauerfauler oder grünfauler Trauben die Moste „stumm“ geschwefelt und entschleimt werden müssen. In diesem Falle wird der Most mit einem ausreichenden Ansatz einer sog. „Sulfithefe“ beimpft.
2. bei der Herstellung von Frucht-dessertweinen, die einen Mindestalkohol von 13 Vol. % erhalten müssen. In diesem Falle benützt man Rassen, deren Hochgärigkeit erprobt ist.

Empfehlenswert ist eine Reingärung, bzw. die Anwendung einer Reinhefe:

1. bei allen Umgärungen von Traubenweinen, insbesondere bei der Schaumweingärung.
2. zur Erzielung reintoniger Apfel- und Beerenweine,
3. auch bei der Vergärung von Obstbrennmaisichen unter Luftabschluß und leichter Schwefelung¹⁾.

Der Zusatz einer Reinhefe allein führt jedoch hier nur dann zu einer Quantitäts- und Qualitätssteigerung, wenn die Gärung geschlossen d. h. unter Luftabschluß durchgeführt und mit einer leichten Schwefelung des Gärgutes verbunden wird.

Die gekauften Hefereinkulturen müssen jedoch für die Beimpfung größerer Mengen Gärgutes vorher erst entsprechend vermehrt werden. Man nennt dies einen „Hefeansatz“ machen. Je flotter die Gärung vonstatten gehen soll, je schwieriger die Bedingungen sind, um so reichlicher muß der Hefeansatz bemessen werden. Man rechnet 2—4 % Impfflüssigkeit.

Wie soll ein Hefeansatz hergestellt werden?

Es hieße Geld zum Fenster hinauswerfen, wollte man eine Kultur von $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Liter einer Reinhefe ohne vorherige Vermehrung, z. B. in ein Halbstück- oder noch größeres Faß geben. Die Reinhefe muß auf eine möglichst große Zahl von jungen Individuen gebracht werden, damit sie zahlenmäßig gegenüber den in frisch gekelterten Obst-, Beeren- und Traubenmosten vorhandenen wilden Hefen und sonstigen Mikroorganismen konkurrieren kann.

Bei Umgärungen muß man deswegen den Wein mit einer großen Anzahl von Hefezellen impfen, weil immer eine gewisse Anzahl von Hefezellen zugrunde geht, und zwar um so mehr, je ungünstiger die Bedingungen sind, welche die Hefe vorfindet. Je größer also in einem solchen Falle die Hefeaussaat ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß Zellen übrig bleiben, die sich an die neuen Daseinsbedingungen gewöhnen; außerdem wird bei größerer Aussaat die Gärung schneller und flotter eintreten und vonstatten gehen.

¹⁾ Marcuta, C.: Die Anwendung verschiedener Gärverfahren bei Obstmaisichen und ihr Einfluß auf die Menge und Güte des Brauntweines. Landw. Jahrb. Bd. 89, H 6, 1940.

Zur Zeit der Obst-, Beeren- oder Traubenernte kann man als Ansatzflüssigkeit einen frisch gekelterten Saft verwenden. Man soll die Mühe nicht scheuen, den Saft zu erhitzen und 10 Minuten lang kochen zu lassen und in diesen Saft dann nach Abkühlung auf mindestens 25 ° C die Hefekultur zugeben.

Würde man die erste Ansatzflüssigkeit nicht abkochen, so vermehrt man automatisch zugleich mit der Reinhefe auch die wilden Hefen, Bakterien usw., und der Erfolg wird bei weitem nicht so sicher sein als bei Verwendung eines sterilen Ausgangsmaterials. Damit bei der Entwicklung der Reinhefen im Hefeansatz keine unnötigen Neuinfektionen durch Essigsäurebakterien usw. eintreten, benutzt man als Ansatzgefäß eine größere Flasche oder einen Glasballon, im Großbetrieb auch ein Faß, das man mit einem Wattebausch oder mit einem Gärspond verschließen kann.

Man bereite zur Vergärung von frischen Säften oder Mosten mindestens so viel Hefeansatz, als 2% der zu vergärenden Menge entspricht. Bei Umgärungen oder bei der Vergärung stumm geschwefelter Moste empfiehlt es sich, 4% Hefeansatz anzustellen.

Nicht zu allen Jahreszeiten hat man frisch gekelterten Most zur Verfügung. In solchen Fällen entgeistet man einen geringeren Wein durch 15—20 Minuten langes Kochen und zuckert ihn auf 15—20 Gew.-% mit Rohrzucker noch während des Kochens auf. Beim Abkochen von Wein dürfen keine schadhafte Emailletöpfe, keine eisernen Töpfe oder eiserne Rührlöffel verwendet werden. (Siehe Seite 168, „Einfluß von Metallsalzen auf Umgärungen“.)

Während das Anstellen eines Hefeansatzes für kleine Mengen Gärgutes sehr einfach ist, erfordert die Hefevermehrung für größere Mengen, vor allem bei Umgärungen, mehr Überlegung. Man kann hierbei in der Praxis nicht die ganze Ansatzflüssigkeit abkochen. In solchen Fällen verfährt man am besten folgendermaßen:

Angenommen, es sollen 10000 Liter Wein umgegoren werden. Der Wein ist gut eingeschwefelt. Es ist ein emaillierter Topf von etwa 12 Liter Fassungsvermögen vorhanden. In diesem werden zunächst 10 Liter Wein durch Kochen entgeistet und auf 15—20% gezuckert. Nach Abkühlung schüttet man in diese Ansatzflüssigkeit die Hefekultur, wobei man darauf achtet, daß von der meist noch Kohlensäuredruck zeigenden Hefekultur nichts daneben spritzt. Wenn die Gärung schnell eintreten soll, gibt man gleich zwei Kulturen zu. Sodann gießt man diese 10 Liter in einen Glasballon von 25 Liter Fassungsvermögen und stellt diese bei Zimmertemperatur (18—22 ° C) auf. Nach 2—3 Tagen wird dieser Ansatz stürmisch gären. Nun gibt man, wenn möglich, nochmals 10 Liter abgekochten und gezuckerten Wein, wenn keine Zeit hierfür vorhanden, 10 Liter des umzugärenden und mit 100—150 g Zucker im Liter versetzten Weines zu. Unterdessen hat man ein Halbstück sauber hergerichtet. Wenn nun nach 4—5 Tagen die 20 Liter Hefeansatz stürmisch gären, kippt man sie zu 20 Litern des gezuckerten und umzugärenden Weines im Halbstück. Nach zwei Tagen gibt man wieder 40 Liter, dann 80, dann 160 Liter usw. des umzugärenden Weines zu, so daß nach 14 Tagen eine Ansatzflüssigkeit von ungefähr 500 Liter kräftig am Gären ist. Mit dieser Ansatzmenge können 10—15000 Liter Wein so geimpft werden, daß die Umgärung unbedingt von Erfolg sein muß.

Bei der ganzen Hefevermehrung ist zu berücksichtigen, daß die Hefe nur allmählich an die Bedingungen des umzugärenden Weines gewöhnt wird. Ist der Wein gut geschwefelt, dann muß auch der Hefeansatz bereits die entsprechende Menge SO₂ enthalten, hat der Wein bereits 10 oder 11 Vol.-% Alkohol, so muß die Hefe schon im Verlauf der Vermehrung an diese Alkoholkonzentration gewöhnt werden.

Welche Fehler werden in der Praxis häufig bei der Anstellung eines Hefeansatzes gemacht?

1. Man läßt der aufgekochten Ansatzflüssigkeit nicht genügend Zeit zur Abkühlung. Durch Fühlen mit dem Finger, anstatt durch Kontrolle mit einem Thermometer, sucht man die Temperatur der Ansatzflüssigkeit

festzustellen und vergißt ganz, daß die Flüssigkeit an der Oberfläche schon abgekühlt sein kann, während sie im Innern noch 60–70° aufweist. Gibt man die Hefe zu früh in die Ansatzflüssigkeit, dann wird sie getötet, gleichsam „abgebrüht“. Eine tote Hefezelle vermag natürlich nicht mehr zu sprossen und zu gären. Viele Reinhefebezieher glauben aber dann doch, dies von einer „abgebrühten“ Hefe verlangen zu können und erfreuen die betreffende Hefezuchtanstalt mit einem mehr oder minder freundlichen Schreiben mit Ersatzforderungen.

2. Man zieht die Hefe zu warm heran, glaubt eine Temperatur von 30° neben einem Ofen müsse ihr besonders wohl tun und wirft sie nachher plötzlich im Keller in einen Wein oder Most, der nur 12–18° C aufweist. Eine solche Maßnahme bedeutet für die Hefe einen plötzlichen „Schock“, von dem sie sich erst allmählich wieder erholt. Es ist also die Hefe während der Vermehrung auch an die Temperatur zu gewöhnen, bei der sie nachher die Hauptarbeit leisten soll.
3. Man betrachtet das Abkochen der ersten Ansatzflüssigkeit und das Entgeisten des Weines nicht für erforderlich und gibt die Hefe einfach in eine bestimmte Menge aufgezuckerten Weines. In diesem Falle hat man keine Garantie, daß tatsächlich die Kulturhefe vermehrt wird. Unter diesen Umständen kann es sogar vorkommen, daß die Kulturhefe gar nicht oder nur in geringem Maße sich vermehrt. Solche Nachlässigkeit kann sich vor allem bei der Schaumweinbereitung schwer rächen.
4. Häufig wird auch der Fehler gemacht, daß eine beliebige Menge Zucker der Ansatzflüssigkeit zugegeben wird. Ist die Zuckermenge zu gering, wird auch die Hefeausschüttung gering. Ist die Zuckermenge zu groß, dann hindert diese die Hefe an einer schnellen Vermehrung (siehe Seite 152, Einfluß der Zuckerkonzentration auf die Gärung).
5. Der größte Fehler ist der, daß man glaubt, überhaupt keine Hefevermehrung vornehmen zu brauchen. Gerade häusliche Obst- und Beerenweinbereiter werfen häufig ihr Geld unnötig zum Fenster hinaus, indem sie in Drogerien und Apotheken Miniaturhefekulturen in Ampullen, Trockenhefen usw. ohne vorherige Vermehrung in ihre Obst- und Beerenmoste werfen. Was bedeuten die paar tausend Hefezellen, welche sich sogar im Ruhezustand befinden, die auf diese Art und Weise 20–50 Liter Obst- oder Beerenmost zugegeben werden, gegenüber den Trillionen Zellen von wilden Hefen, welche von Natur aus in diesen Säften sind?

Würden diese häuslichen Weinhersteller die Hefedepots nach der Gärung mikroskopieren, so würden sie feststellen können, daß die Kulturhefe nur wenige Prozent der Zellenzahl im Depot stellt oder überhaupt nicht zum Durchbruch kam. Bis die ruhenden Zellen aus einer Trockenhefe oder Ampullenhefe richtig zum Sprossen kommen, haben die wilden Hefen zahlenmäßig einen nicht wieder einzuholenden Vorsprung gewonnen.

Es ergibt sich also die Schlußfolgerung, daß der Kauf von Ampullen- oder Trockenhefen in Drogerien und Apotheken eine unnütze Geldausgabe bedeutet, wenn sie nicht vorher sachgemäß vermehrt und herangezogen werden.

Sowie man irgendwie die Möglichkeit hat, zieht man flüssige und frische Hefekulturen, welche jugendliche Hefezellen enthalten, allen anderen vor,

da diese viel leichter und schneller zu vermehren sind und selbst bei höherem Preis sich besser lohnen.

Wenn man eine Trocken- oder Ampullenhefe in eine abgekochte, also sterile Nährflüssigkeit (Most) bringt, so hat man zugleich die Möglichkeit, festzustellen, ob die gekaufte Kultur noch lebende, gärfähige Hefezellen enthielt, oder ob sie zu alt war. Sowie man dies nicht tut, hat man ja bei diesen Fabrikaten nicht immer die Garantie, ob die Kultur noch brauchbar war oder nicht.

2. Wettbewerb der Gattungen und Arten untereinander, Einfluß der Gattungen und Arten aufeinander

Jede Hefegattung und -art erzeugt ihre spezifischen Stoffwechselprodukte, welche auf eine benachbart lebende Gattung oder Art fördernd oder hemmend wirken kann. Die Hemmung kann soweit gehen, daß bestimmte Mikroben in Gegenwart anderer überhaupt nicht aufkommen können.

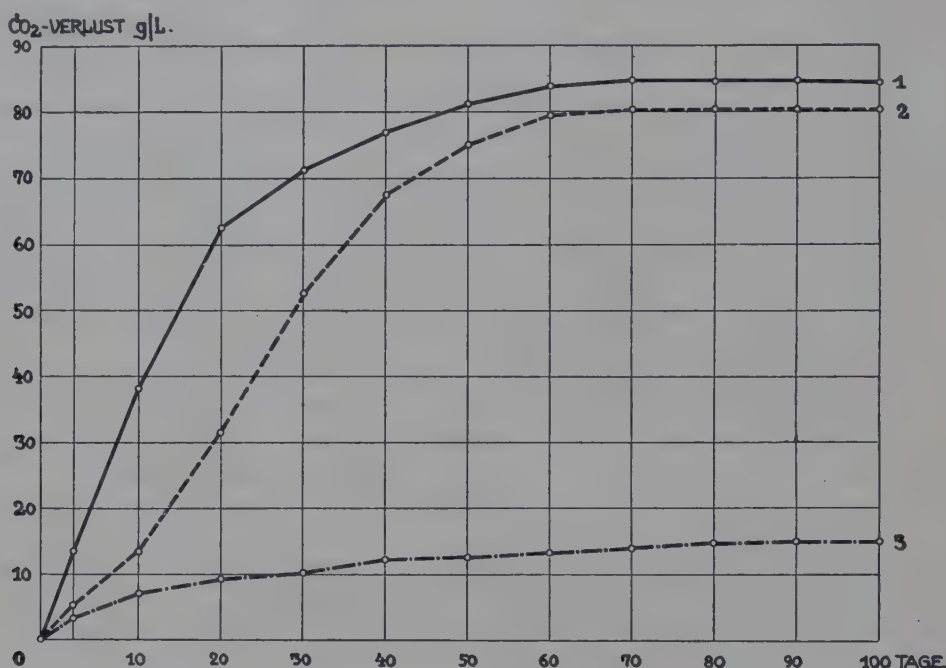


Abb. 95. Der Verlauf einer Gärung: 1 = Kulturhefe allein, 2 = Kulturhefe in Gegenwart von Apiculatushefe 1:1, 3 = Apiculatushefe allein. (Nach Müller-Thurgau.)

Wissenschaftlich bezeichnet man diese Verhältnisse als Antagonismus (griech. antagonizomai = gegen jemand kämpfen, wetteifern) und Antibiosis (anta = entgegen, bios = Leben). Die Stoffe, die von Mikroben erzeugt werden und die gegen andere Mikroben wirken, nennt man heute Antibiotika, deren bis jetzt schon 60 an der Zahl entdeckt wurden. Berühmt sind in den letzten Jahren die Antibiotika Penicillin und Streptomycin geworden. Ersteres hat seinen Namen von dem Erzeuger, der Schimmelpilzgattung *Penicillium*, das letztere von einem Strahlenpilz *Streptomyces griseus*.

Antagonistische Vorgänge spielen sich auch bei den Most- und Weingärungen ab. Schon Müller-Thurgau hat in seiner Geisenheimer Zeit

studiert, wie eine Weinhefe-Reinkultur sich verhält, wenn sie allein ein Substrat bevölkern kann und wie, wenn sie sich mit den Stoffwechselprodukten einer mitgeimpften Apiculatushefe auseinandersetzen muß. Das Ergebnis des Müller-Thurgauschen Grundversuches ist in Abbildung 95 graphisch dargestellt. Daraus ist ersichtlich, daß die Gärgeschwindigkeit durch die Anwesenheit einer Apiculatushefe verlangsamt und der Entvergärungsgrad etwas herabgedrückt wird.

Dr. Schulle hat auf meine Veranlassung dieses Grundphänomen einer mehr detaillierten Untersuchung unterzogen und dabei feststellen können, daß dabei auch die Anzahl der miteingesäten Apiculatushefen eine Rolle spielt. Eine kleine Konkurrenz kann die Stoffwechseltätigkeit der Kulturhefe sogar anregen und beschleunigen. Nimmt die Konkurrenz jedoch zu, so wird die Stoffwechseltätigkeit der Kulturhefe gebremst, so wie es bereits Müller-Thurgau feststellte.

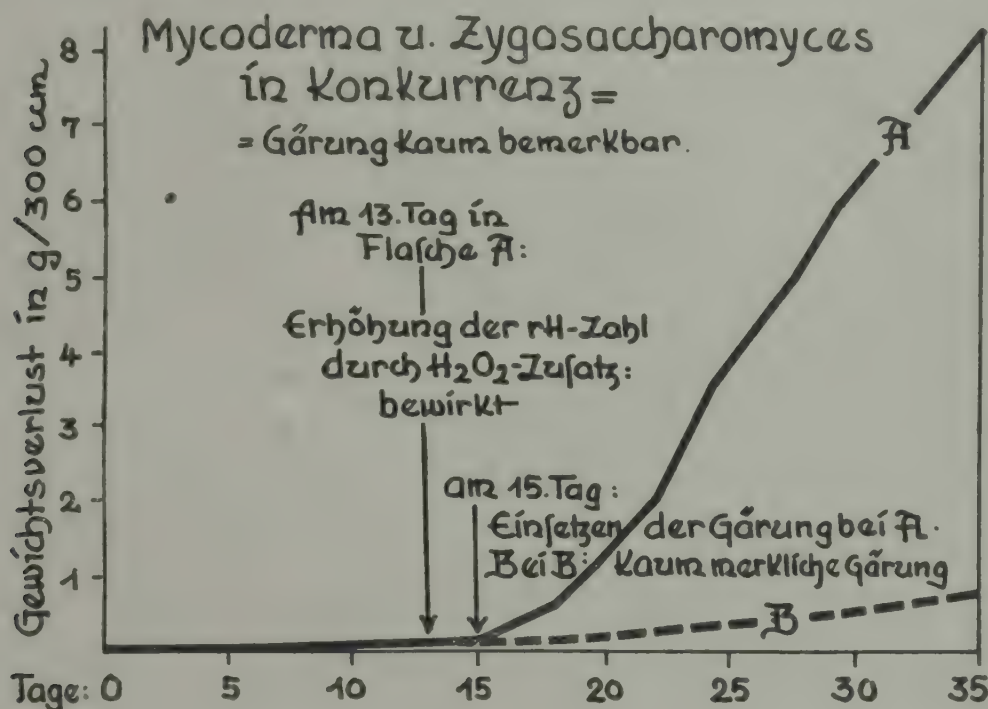


Abb. 96.

Ein besonders interessantes antagonistisches Verhältnis besteht zwischen den Hefegattungen *Mycoderma* und *Zygosaccharomyces*. Impft man auf einen Most für sich allein *Zygosaccharomyces variabilis*, so dauert es je nach Temperatur nur 2–3 Tage bis die Gärung in vollem Gange ist. Impft man jedoch diese Hefe zusammen mit *Mycoderma* in denselben Most, so kommt lange Zeit überhaupt keine Gärung zustande und später nur eine ganz schwache. Das feine Häutchen der Kahlhefe auf der Oberfläche des Mostes hindert *Zygosaccharomyces* an der Gärung.

Wie diese Erscheinung zustandekommt haben Untersuchungen des Redoxpotentials solcher Gäransätze aufgeklärt. *Mycoderma* sendet ohne zu gären reduzierende Stoffe in den Most, welche das Redoxpotential des Mostes unter die Mindeststufe, welche *Zygosaccharomyces* zur Angärung braucht, herabdrückt. Daß es tatsächlich die Senkung des Redoxpotentials ist, womit

das Kahlmhefehäutchen *Zygosaccharomyces* im Schach hält und an der Entwicklung hindert, kann man dadurch beweisen, daß eine künstliche Hebung des Redoxpotentials mit Hilfe eines kleinen Tropfens Wasserstoffsuperoxyd genügt, um *Zygosaccharomyces* trotz Gegenwart der Kahlhefe zum Gären zu bringen.

Auf einen Antagonismus zwischen Jerezhefedecken und Essigbakterien haben die spanischen Oenologen Marcilla, Alas und Feduchy¹⁾ hingewiesen. Ist einmal eine Jerezhefedecke auf einem Wein angewachsen, so werden Essigbakterien von ihr unterdrückt. Dieser Antagonismus ist

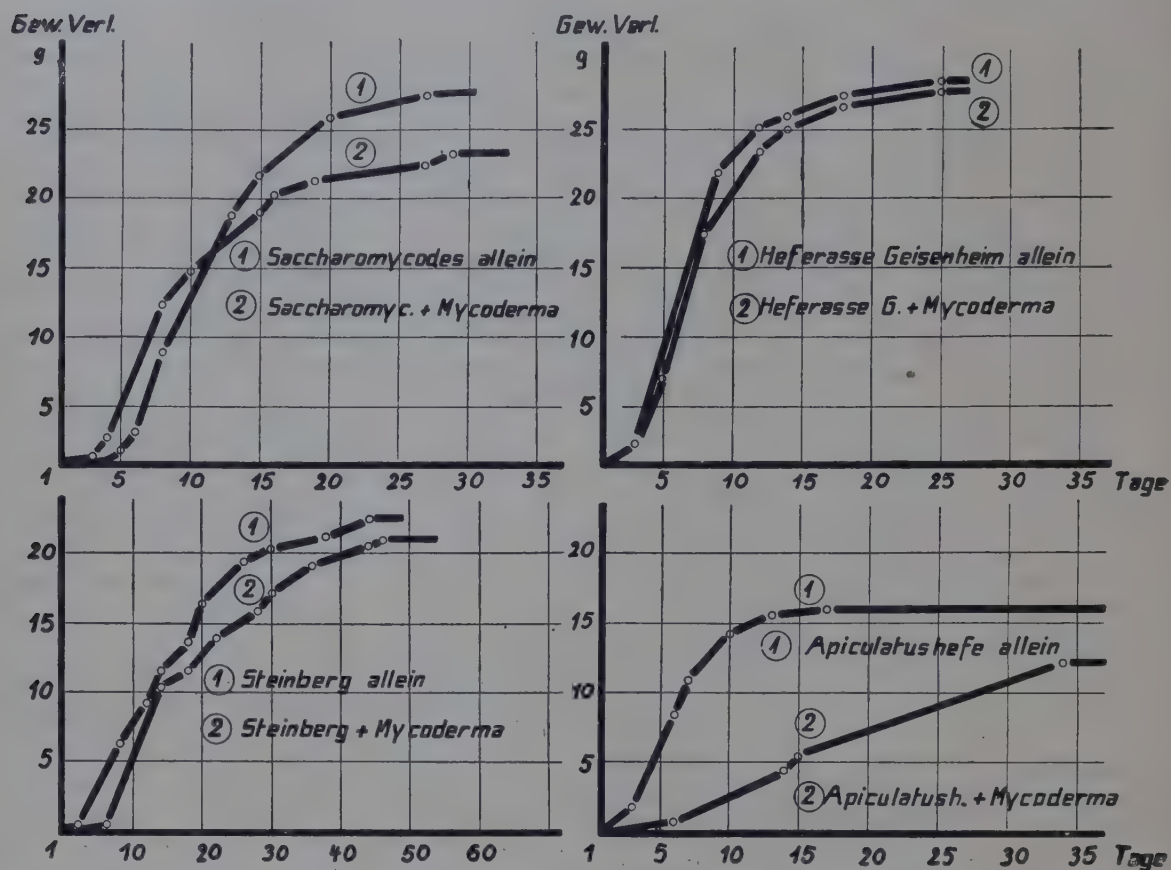


Abb. 97. Versuche über die gegenseitige Beeinflussung von verschiedenen Hefegattungen.

wiederum durch Senkung des Redoxpotentials von seiten der Hefen bedingt, wogegen Essigbakterien, wie ihre Reaktionsweise gegenüber SO_2 zeigt, sehr empfindlich sind.

Schließlich könnte man von einem Antagonismus aller alkoholliefernden Hefen gegenüber alkoholempfindlichen Hefen, Bakterien und Schimmelpilzen sprechen.

3. Gattungs-, Art- und Rasseeigenschaften von Hefen

Der in Abbildung 98 dargestellte Versuch zeigt, wie die Gärung ausfällt, wenn ein und derselbe Traubenmost jeweils von Vertretern verschiedener

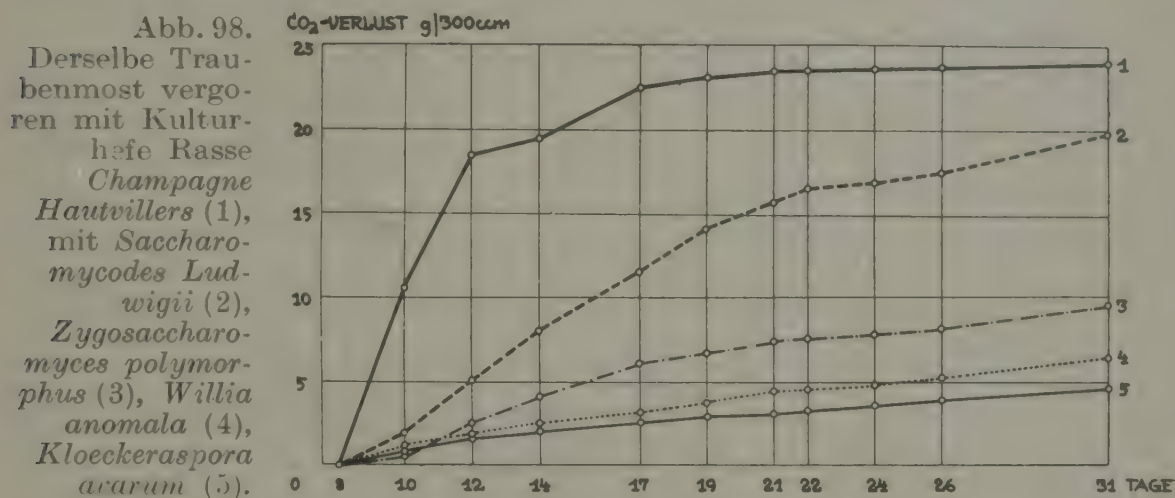
¹⁾ Marcilla, Juan, Genaro Alas y Enrique Feduchy. Contribucion al estudio de las Levaduras que forman velo sobre ciertos vinos de elevado grado alcoholico. Anales del Centro de Investigaciones vinicola Vol. I Madrid 1936.

Hefegattungen vergoren wird. Jede Gattung und Art zeigt immer wieder einen typischen Gärverlauf. Aber nicht allein der Gärverlauf ist verschieden, sondern auch Endvergärungsgrad und der Charakter des „Weines“. Zugleich zeigt das Kurvenbild die offensichtliche Überlegenheit der Gattung *Saccharomyces*. So wie in diesem Beispiel tritt sie bei Konkurrenzen zwischen den verschiedenen Hefegattungen immer zutage. Wäre diese markante Überlegenheit der Gattung *Saccharomyces* nicht, so gäbe es keine Hefereinzucht.

Dieser anschauliche Versuch zeigt uns, daß es für die Vergärung eines Trauben- oder Obstmostes nicht gleichgültig ist, welche Hefegattung die Gärung vollzieht. Aus dieser Erkenntnis heraus überläßt man in bestimmten Fällen diesen Faktor nicht mehr dem Zufall, sondern schaltet diesen ganz einfach dadurch aus, daß man dem Gärgut eine gärtüchtige Gattung, nämlich eine Rasse der Gattung *Saccharomyces* zusetzt.

So wie es in biochemischer Hinsicht große Unterschiede in den Gattungen gibt, so wiederum innerhalb der Arten einer Gattung, ja sogar innerhalb den Rassen einer Art.

So kann man innerhalb der Gattung *Mycoderma* Vertreter isolieren, welche in bezug auf Alkoholverträglichkeit große Unterschiede aufweisen. Innerhalb der Art *Kloeckeraspora apiculata* lassen sich aus der Natur sehr



gärschwache aber auch relativ gärtüchtige Rassen isolieren. Während die meisten nicht über 6–7 Vol. % Alkohol zu liefern vermögen, lassen sich unter einer größeren Anzahl von Isolierungen immer welche finden, die leistungsfähiger sind.

So ist es auch innerhalb der Art *Saccharomyces cerevisiae*. Jedes Gärungsgewerbe kann für seine Zwecke besonders geeignete Rassen aus der ungeheuren Population, mit der diese Art die Erde bevölkert, isolieren: der Bierbrauer, der Bäcker, der Obstbrenner, der Melassevergärer, der Zuckerrohrvergärer, der japanische Reisweinfabrikant, der Schaumweinhersteller, der Hersteller von Obstdessertweinen usw. Sie alle nützen lediglich die Tatsache aus, daß in der ungeheuer individuenreichen Population dieser Hefeart eine riesige Zahl von biochemischen Eigenschaften in mannigfaltigster Weise verteilt ist. Die Mannigfaltigkeit in der Ausstattung einzelner Zellindividuen ist so groß, daß sich sogar für die speziellen Wünsche und Ansprüche ein und derselben Gärbranche, wie z. B. der Weinbranche, Rassen mit ganz speziellen

Eigenschaften selektionieren ließen wie z. B. ausgesprochene Umgärhefen, Schaumweihen für Kaltgärung und für Warmgärung, Hefen ohne spezifische Gärbukette, Weinhefen mit ausgesprochenen Gärbuketten, Sulfithefen, besonders schnellgärende oder langsam gärende Weinhefen und besonders hochgärige bis 19 Vol. % Alkohol liefernde Hefen, Rassen welche schnell in das sog. „oxydative“ Stadium kommen, Rassen die sehr lange dazu brauchen usw. Kurzum, der Faktor Gattungs-, Art- und Rasseneigenschaft der Hefe bei einer Gärung, wird seit den Tagen eines Christian Emil Hansens von den verschiedensten Zweigen der Gärungsgewerbe bewußt und mit Erfolg praktisch ausgenützt.

IV. Anhang

Spezielle Mikrobiologie der Schaumweinbereitung

Der Schaumwein steht in gärungsphysiologischer Hinsicht im ganzen Gärungsgewerbe einzigartig da.

Das Bier wird aus einem durch Kochen steril gemachten Malzauszug, der sog. „Bierwürze“, hergestellt, ein für die Hefeentwicklung denkbar günstiges Substrat, von dem die Hefe konkurrenzlos Besitz ergreifen und es mit Leichtigkeit besiedeln kann. Dabei wird von ihr nur eine Gärleistung von 3—6 Vol. % Alkohol verlangt.

Bei der Weinbereitung wird von der Hefe schon die doppelte bis dreifache Gärleistung verlangt. Sie findet jedoch sozusagen „jungfräulichen“ Boden vor, indem es ihr normalerweise an nichts fehlt, was sie braucht. Zwar kann die Hefe vom Trauben- oder Obstmost nicht konkurrenzlos Besitz ergreifen, wie von der Bierwürze, sie muß sich mit allerlei Artgenossen, Bakterien und Schimmelpilzen herumschlagen und diese erst in heftigem Konkurrenzkampf überflügeln. Dies gelingt ihr jedoch in der Regel ohne Schwierigkeit, zumal wenn der Weinküfer sie dahingehend unterstützt. Ein Teil ihrer Stoffwechselprodukte reichert sich zwar im Substrat im Laufe der Gärung an, und erschwert und bremst die Lebenstätigkeit der Hefen mit dem Fortschreiten der Zeit an, aber die gasförmigen Stoffwechselprodukte, hauptsächlich das Kohlendioxyd, können jedoch entweichen.

Wie ist nun die Situation für die Hefe bei der Schaumweinbereitung?

Zum Unterschied vom Bier und Traubenmost wird ihr hier kein jungfräuliches Substrat geboten, sondern ein Substrat, dem schon in mindestens einer, manchmal sogar in zwei vorausgegangenen Gärungen mehrere Hefegenerationen einerseits Wachstumsstoffe entzogen und andererseits Lebensstoffwechselprodukte hinterlassen haben. So findet die Hefe bei der Schaumweinbereitung im Substrat mindestens 9, häufig 10 und manchmal sogar (Rotsekte) 11—12 Vol. % Alkohol vor. Unterdessen hat der Grundwein schon verschiedene Schwefelungen durchgemacht, die jedesmal freien Sauerstoff im Wein abfangen und die Sauerstoffarmut des Weines vergrößert haben.

Noch nicht genug der vom Schaumweinküfer der Hefe zugemuteten Schwierigkeiten! Sie soll in dem dargebotenen Wein, trotz seines relativ hohen Alkoholgehaltes noch 20—30 g/l Zucker vergären, ohne daß das gasförmige Stoffwechselprodukt Kohlensäure entweichen kann. Dieses soll sich

im Wein lösen. Es ist ja gerade das, worauf man es bei diesem Prozeß abgesehen hat. Dadurch wird aus dem gewöhnlichen Wein ein edleres, teureres Produkt, der „Schaumwein“.

Damit sind jedoch die Forderungen und Erwartungen, die der Schaumweinküfer an die Hefe stellt, beileibe noch nicht erledigt. Er verlangt von ihr noch obendrein, daß sie ohne Zögern an die gestellte Aufgabe der Flaschengärung geht, keine „Masken“ bildet (d. h. an den Flaschenwänden kleben bleibt), ein sandig, griesliges Depot bildet und sich leicht abrütteln läßt.

Es gibt im gesamten Gärungsgewerbe keinen Fall, in dem von der Hefe ähnlich hohe Leistungen verlangt werden wie bei der Schaumweinbereitung. Nun möchte man meinen, daß der Schaumweinküfer mit besonderer Liebe und Sorgfalt die Hefe behandelte und sie bei ihrer wahrlich schwierigen Arbeit weitgehend zu unterstützen versuchen würde. Mit welcher Sorgfalt behandelt und züchtet doch schon der Bierbrauer die Hefe vor, obwohl sie bei ihm nicht entfernt so große Leistungen erbringen und Schwierigkeiten zu überwinden hat.

Aber weit gefehlt! Die Hefe wird vom Schaumweinküfer bei weitem nicht in dem Maße gefördert und behandelt wie sie es bei ihrer schwierigen Arbeit verdiente. Dies kommt daher, weil sich die wenigsten von den biologischen und biochemischen Vorgängen, die sich bei der Flaschengärung abspielen, eine richtige Vorstellung machen.

In das Wesen dieser hochinteressanten Vorgänge einzuführen und plastische Vorstellungen von diesen Vorgängen zu vermitteln, soll die Aufgabe folgender Kapitel sein.

1. Zur Geschichte der Schaumweinbereitung

Da die Schaumweinbereitung ursprünglich allein und auch heute noch zum allergrößten Teil nach dem Flaschengärverfahren vollzogen wurde, war sie an die Existenz von Flaschen und Flaschenverschlüssen geknüpft. Bis an die Schwelle des 18. Jahrhunderts wurde Wein selten in Flaschen abgezogen. Nicht daß Glasflaschen bis dahin unbekannt gewesen wären! Solche kannten schon die alten Römer. Vielmehr kannte man bis dahin nicht den Flaschenverschluß mittels Korken. Die Erfindung der Flaschengärung schreibt man dem Frater Kellermeister des Klosters von Hautvillers in der Champagne, Dom Pérignon, zu († 1715).

Nach den Ausführungen Vayasseurs (Vouvray-Frankreich) in seinem auf dem Internationalen Weinbaukongreß in Kreuznach 1939 gehaltenen Referat über die Entwicklung der Schaumweinbereitung, darf man es jedoch nicht so auffassen, als ob Dom Pérignon bereits die Prinzipien und Regeln einer industriellen Schaumweinbereitung entwickelt hätte. Dom Pérignon hat in seinen schriftlichen Memoiren lediglich Angaben über die Gewinnung von weißem Most aus roten Trauben, über die Mischung der Trauben, den Ausbau der Weine, aber merkwürdigerweise keine einzige Angabe über eine regelrechte Flaschengärung darin erwähnt. Über die Behandlung des Weines, konnte Dom Pérignon, dem damaligen Stand der Wissenschaft entsprechend nur vage Andeutungen machen.

Die Idee und die ersten Versuche mit wenigen Flaschen mögen sicher von Dom Pérignon stammen. Aber bis zu einer Schaumweintechnik war noch ein weiter Weg. Erst 30 Jahre nach dem Tode Dom Pérignons riskierte ein Kaufmann in Reims die Füllung von 6000 Flaschen. Nur 120 Flaschen, also 2%, blieben ganz. Weitere 40 Jahre später, im Jahre 1786 wurde nach den Angaben Vayasseurs die erste bedeutende Füllung in der Größe von 50000 Flaschen von einem Kaufmann in Ferry an der Marne gewagt. Der Flaschenbruch war aber immer

noch sehr groß. Aus dem großen Risiko und den großen Verlusten, die die damalige Produktion mit in Kauf nehmen mußte, resultierte der hohe Preis für einen Schaumwein.

Die Aufwärtsentwicklung der Schaumweinherstellung zu einer Industrie vollzog sich erst im 19. Jahrhundert. Gewiß haben dazu auch die epochemachenden Arbeiten Louis Pasteurs beigetragen.

Aber für die Entwicklung der Schaumweinfabrikation aus dem Stadium eines höchst riskanten Gewerbes zu einer betriebssicheren Industrie war die Erfindung einer einfachen Zuckerdosierungsmethode durch den Apotheker Francois in Chalons-sur-Marne von entscheidender Bedeutung. (Veröffentlicht 1836.)

Durch die als „Reduction Francois“ bezeichnete Dosierungsmethode wurde der Flaschenbruch und der Verlust durch Auslaufen der Flaschen von ursprünglich 98 % auf 10 % herabgedrückt. Die Erfindung Francois hatte für die Schaumweinfabrikation eine ähnliche epochemachende Bedeutung wie die Einführung reingezüchteter Hefen in der Bierbrauerei durch Emil Hansen, wodurch die Betriebsunsicherheit soweit ausgeschaltet wurde, daß von da ab das Brauereigewerbe sich zu einer Standardware liefernden Industrie entwickeln konnte.

Die Methode Francois hieß deswegen „Reduction“, weil 750 g gezuckerten Weines durch Eindampfen auf 125 g „reduziert“ wurden. Dadurch wurde der Wein soweit eingedickt, daß man nachher mit einem gewöhnlichen Densimeter nach Baumé (Areometer, Senkwaage) seine Dichte messen und aus einer entsprechenden Tabelle den Zuckergehalt errechnen konnte.

Die Methode von Francois wurde von Maumené später verbessert und noch heute in Frankreich in der Praxis benutzt. Sie ist bedeutend einfacher als eine chemische Zuckerbestimmung und erlaubt eine Erfassung des Dosagezuckers bis zu einer Genauigkeit von 2–3 g im Liter. Später kam noch eine schnellere, aber weniger genaue Methode nach Robinet unter dem Namen „Reduction Robinet“ in Gebrauch.

Die Erfindung der „Reduction Francois“ war ein Markstein in der Entwicklungsgeschichte des Schaumweins. Die späteren technischen Erfindungen und Verbesserungen waren nicht mehr von so epochemachender Bedeutung.

Immerhin war ein weiterer wichtiger Schritt zur Vervollkommnung des Champagnisierens die Einführung reingezüchteter und für die speziellen Bedingungen der Flaschengärung selektionierter Weinhefen durch E. Manceau¹⁾ um 1900. Durch diese Neuerung wurde die Betriebssicherheit durch Vermeidung von Gärhemmungen weiter erhöht und die fortwährende sichere Erzielung bestimmter Standardtypen von Schaumwein wesentlich erleichtert.

Die deutsche Schaumweinindustrie erkannte ebenfalls sehr bald die durch die Anwendung reingezüchteter Schaumweinspezialhefen gewährleisteten Vorteile und ist nach dem 1. Weltkrieg fast vollzählig zur Verwendung solcher Hefestämme übergegangen.

Zur weiteren Ausschaltung von Fabrikationsstörungen trug in Deutschland die Einführung der Blauschönung (1930) bei, indem dadurch einerseits

¹⁾ Manceau, E. Recherches sur la seconde Fermentation ou Pris de Mousse des Vins de Champagne. Bull. du Lab. Exper. de Viticulture et Oenologie de la Maison Moët et Chandon, 5. Jahrg., Bd. 11, 1902.

Gärstockungen durch Eisen und andererseits Nachtrübung durch Auftreten von schwarzem, grauem und weißem Bruch verhindert wurden.

Die Kohlennot des letzten Krieges trug zu der von mir schon 1938 propagierten Einführung der sog. „Kaltgärhelfen“ bei, welche auf Resistenz gegenüber tiefen Temperaturen hin selektioniert sind und eine normale Flaschengärung ohne Wärmelokale bei Temperaturen bis herunter auf $+8^{\circ}\text{C}$ gewährleisten.

In der Neuzeit lebt die Schaumweinindustrie in der interessanten Phase der Auseinandersetzung des traditionellen Flaschengärverfahrens mit dem sog. „Großraumgärverfahren“. Während man seit Dom Perignons Zeiten die Gärung des Schaumweines in der Regel in 750 ccm fassenden, dickwandigen Druckflaschen (manchmal auch in mehreren Liter fassenden „Magnum-Flaschen“) vollziehen ließ, schuf die moderne Technik die Möglichkeit, die Vergärung gleich von mehreren Tausend, ja sogar zehntausend Litern in Drucktanks zu vollziehen. Die Vorteile des modernen Großraumgärverfahrens sind so groß, daß sich jetzt schon absehen läßt, daß wir z. Z. am Beginn eines „Phasenwechsels“ der Schaumweintechnologie stehen. Wir werden auf die sich dabei ergebenden speziellen gärungsphysiologischen Fragen später zu sprechen kommen.

Wir sehen also aus dieser groben Skizzierung der einzelnen Etappen in der Entwicklung der Schaumweinkellerei zu einer Industrie, daß sich in der neueren Zeit der Einfluß der Biochemie, der Mikrobiologie und der Technik in ihr deutlich zu erkennen gibt. Die Schaumweinfabrikation ist allmählich aus der Phase der reinen Empirie in eine neue Phase der bewußten Anwendung naturwissenschaftlicher Erkenntnisse getreten. Sie erfuhr in der Neuzeit eine wissenschaftliche Untermauerung. Diese „wissenschaftliche“ Phase wurde um 1900 in Frankreich durch die verdienstvollen Arbeiten von Emile Manceau eingeleitet, die uns in Geisenheim 1938—1945 Ansporn und Vorbild für weitere, hier erstmalig veröffentlichte, spezielle Untersuchungen waren.

2. Champagner und Schaumwein

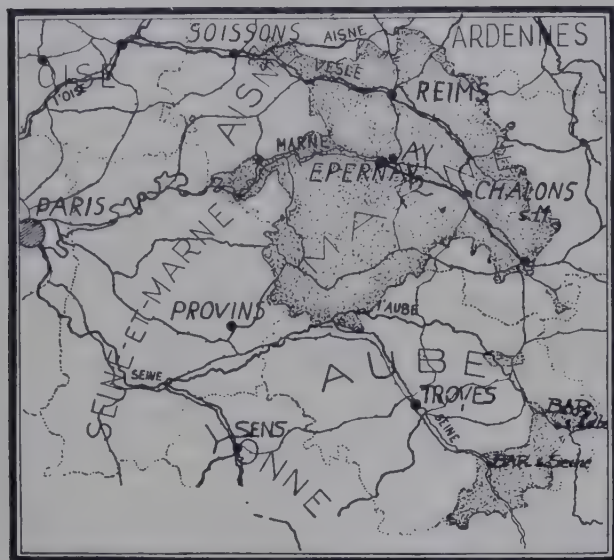
Die französische Weingesetzgebung macht bekanntlich einen scharfen Unterschied zwischen Champagner und Schaumwein (vin mousseux). Ersterer muß folgende Bedingungen erfüllen: 1. er muß nach Champagnerart in einem geographisch genau festgelegten Bezirk der Champagne (siehe Karte) aus dortigen Trauben¹⁾ gekeltert sein. 2. er muß nach dem Flaschengärverfahren hergestellt worden sein. 3. er muß mindestens 1 Jahr auf der Flasche bzw. dort auf der Hefe gelagert worden sein.

Alle Schaumweine, welche nur eine dieser Bedingungen nicht erfüllen, dürfen niemals unter dem Namen Champagner, sondern nur unter der Bezeichnung „vin mousseux“ in den Handel gebracht werden.

¹⁾ Die 3 nach der Appellation contrôlée „Champagne“ zugelassenen Traubensorten sind: 1. die verschiedenen Varietäten von Pinot, 2. le petit Meslier, 3. l'Arbonne.

Bis zum Jahr 1955 Gamay und verschiedene andere Reben die bis 1927 gepflanzt wurden, mit Ausnahme der Hybriden.

Über den Standpunkt der französischen Weingesetzgebung wurde und wird immer wieder von Laien und Weinfachleuten diskutiert. Von ersteren wird häufig die Frage gestellt, ob französischer Champagner tatsächlich besser wäre als deutscher Schaumwein. Indessen ist eine solche Frage ebenso müßig wie die, ob Äpfel besser als Birnen wären; denn man kann wohl Apfelsorten und Birnensorten untereinander, aber doch nicht miteinander vergleichen. Ebenso verhält es sich mit Champagner und Schaumwein. Die scharfe Unterscheidung der französischen Weingesetzgebung ist sehr wohl berechtigt. Der Champagner ist durch seine Herstellungsweise ein so spezifisches Erzeugnis, daß er vom gewöhnlichen Schaumwein unterschieden werden kann und muß. Beide Weinarten können nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden.



Worin bestehen nun die spezifischen Unterschiede? Während zur Herstellung eines „vin mousseux“ jeder nächstbeste Wein mit entsprechendem Säure- und Alkoholgehalt Verwendung findet, beginnt die Fabrikation des „Champagners“ bereits mit der Kelterung des Traubenmostes.

Abb. 99. Nur aus den punktiert gezeichneten Gegenden darf in Frankreich die Bezeichnung „Champagne“ tragen.

Die wichtigste Rebensorte der Champagne ist die Sorte *Pinot noir*, daneben spielen noch *Meunier noir* und die weiße Sorte *Chardonnay* eine Rolle. Um einen Weißwein zu erhalten, müssen die blautraubigen Sorten *Pinot* und *Meunier* „weiß“ gekeltert werden. Das allein ist aber noch nicht das charakteristische am Champagnergrundwein. In gärungsphysiologischer und biochemischer Hinsicht ist von entscheidender Bedeutung, daß die für Champagnerbereitung bestimmten Moste grundsätzlich fraktioniert gekeltert werden und die Trauben vor der Pressung nicht gemahlen werden, sondern unverletzt in die Presse gelangen.

Aus 4000—4200 kg Trauben gewinnt man:

20 Hektoliter	„Cuvée“
3	„ première taille
3	„ deuxième taille
2	„ „Rebêche“
28 Hektoliter	insgesamt.

Cuvée, Taille und Rebêche werden prinzipiell voneinander getrennt behandelt und eingelagert. Rebêche (Nachdruck) wird grundsätzlich nicht für die Champagnerbereitung verwendet. Die feinen Champagnermarken werden ausschließlich aus dem Cuvée hergestellt, die „tailles“ werden je nachdem für billigere Marken oder zu Verschnittzwecken verwendet.

Um vor allem aus den blauen Traubensorten *Pinot* und *Meunier noir* einen möglichst hellfarbigen Most zu erhalten, werden die Moste mit oder

ohne Schwefeldioxydzusatz „entschleimt“ (Debourlage), indem man sie 12–24 Stunden lang in eigenen Behältern Trub absetzen läßt und sie sorgfältig von diesem in die eigentlichen Gärfässer abzieht. Voraussetzung ist, daß der Most so lange Zeit „stumm“ bleibt, d. h. nicht gärt, damit die Trubbestandteile Zeit haben, zu sedimentieren. Bei warmer Witterung müssen die Moste leicht geschwefelt oder gekühlt werden, um die Gärung 12–24 Stunden



Abb. 100. Im Hof einer Champagner-Kellerei zur Zeit der Traubenernte. Es werden sortierte, unverletzte Trauben in Körben angeliefert.
Phot. Dr. Dvornik.

hinzuzuhalten. Manceau empfiehlt die Entschleimung nicht allein in schlechten Jahren bei Anfall nicht ganz einwandfreien Lesegutes, sondern prinzipiell für alle zur Champagnerbereitung bestimmten Weine auch in guten Jahren, d. h. wenn absolut gesunde Trauben anfallen.

Was bringt nun die Methode der fraktionierten Kelterung dem Champagnerhersteller für Vorteile? Diese Frage beantworten in prägnanter Weise

die von Emile Manceau gesammelten analytischen Daten, welche von mir wegen besserer Anschaulichkeit in der Abbildung 102 graphisch dargestellt wurden.

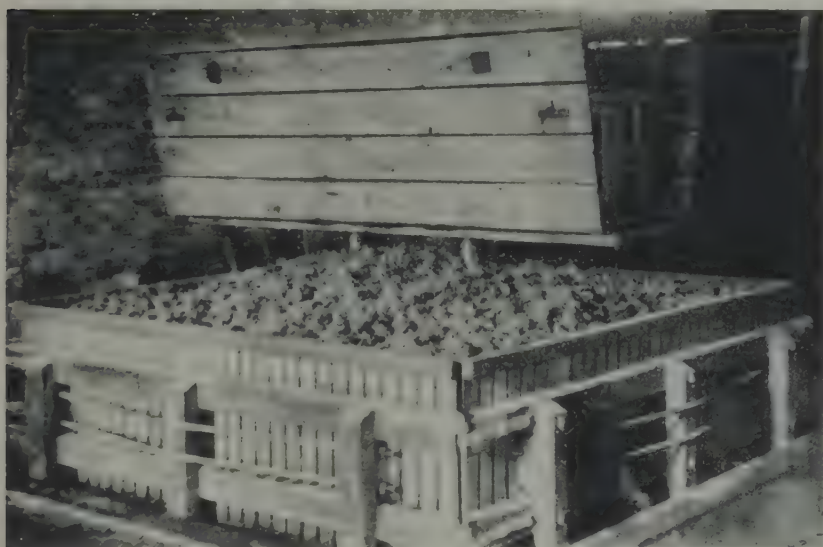


Abb. 101. Unverletzt kommen in der Champagne die Trauben unter die altertümliche Presse zur fraktionierten Kelterung.
Phot. Dr. Dvornik.

Gehen wir in unserer Betrachtung in der bei der graphischen Darstellung innegehaltenen Reihenfolge vor.

1. Gesamtsäure. Wir sehen, daß diese von Fraktion zu Fraktion abnimmt. Den größten Gesamtsäuregehalt hat stets der Vorlauf = Cuvée.

¹⁾ Manceau, E: *Vinification Champenoise*. Epernay, 1929. — Manceau, E: *Oenologie Champenoise*. Epernay, 1927.

2. Freie Weinsäure. Die fraktionierte Kelterung und die getrennte Einlagerung der einzelnen Fraktionen wirkt sich besonders stark auf den Gehalt an freier Weinsäure aus. Die Gesamtsäure liegt im Vorlauf fast zu 100% in Form freier Säure vor. Von Fraktion zu Fraktion nimmt der Gehalt an freier Säure ab und entsprechend der Gehalt an gebundener Säure zu. Diese Tatsache wirkt sich auf den Grundwein in zweifacher Hinsicht aus. Erstens in gastronomischer Hinsicht, weil der höhere Gehalt an freien Säuren es ist, der dem Champagner die von allen Kennern und Feinschmeckern so sehr geschätzte Frische, fruchtige Art und die appetitanregende Wirkung verleiht. Zweitens in bakteriologischer Hin-

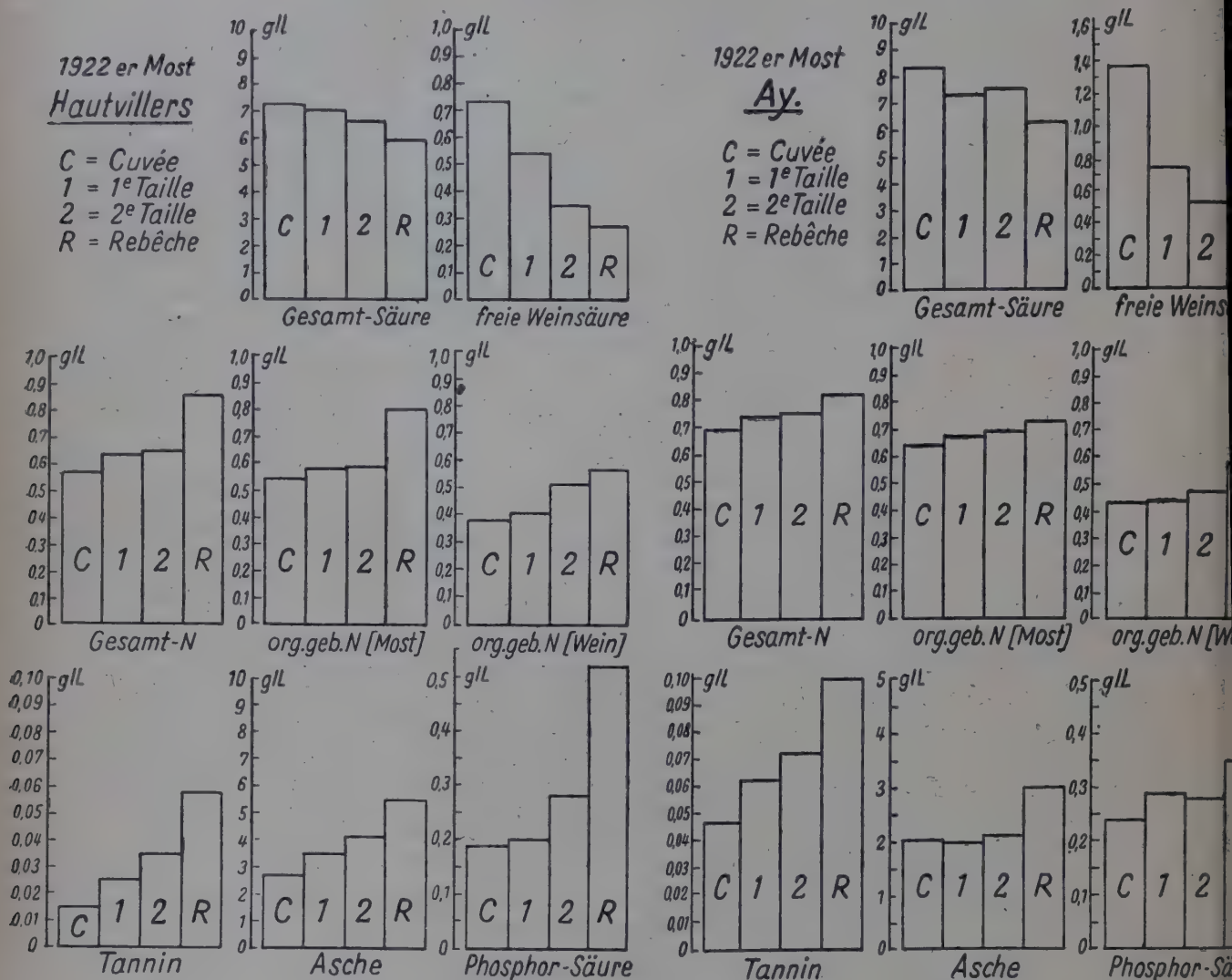


Abb. 102.

sicht, indem die höhere Konzentration freier Wasserstoffionen den Grundwein unempfindlicher gegen Bakterienangriffe, d. h. Bakterienkrankheiten, wie Milchsäurestich, Zähwerden usw. macht.

3. Der Gehalt an Gesamtstickstoff (N). Während der Gehalt an Zucker, Gesamtsäure und freier Säure in der ersten Fraktion am höchsten ist, kehrt sich bei den nun folgenden Weinbestandteilen das Bild um. So ist auch der Stickstoffgehalt, der zum größten Teil aus organisch ge-

bindenem Stickstoff besteht, im Vorlauf am geringsten und im Nachdruck am höchsten. Dieser Umstand wirkt sich insbesondere auf die Geschwindigkeit des Ausbaues aus. Je weniger organische Stickstoffverbindungen ein Wein besitzt, um so rascher klärt er sich und um so schneller wird er „glanzhell“. Umgekehrt braucht ein Wein um so länger zu seiner Klärung, je mehr Stickstoffsubstanzen er enthält. Durch die fraktionierte Kelterung ist es in der Champagne möglich, die Weine aus der 1. und 2. Fraktion schon im darauffolgenden März zur Champagnerfabrikation zu verwenden, da sie bis dahin, verbunden mit einigen Abstichen und Schönungen sich vollkommen geklärt und ihr chemisches Gleichgewicht erreicht haben. Der niedrige Gehalt an organischen Stickstoffverbindungen bietet in bakteriologischer Hinsicht den Vorteil, daß durch ihn niemals üppige Bakterienentwicklungen auftreten können, weil diese stets an die Anwesenheit ausreichender Mengen organisch gebundenen Stickstoffs gebunden sind.

Der Gehalt an Gesamt-N ist bei den Champagner-Mosten an sich im Durchschnitt geringer als der unserer deutschen Traubenmoste. Dies kommt daher, daß ein Großteil der Rebenpflanzungen der Champagne auf Kreideuntergrund, der meist schon bei 30—35 cm Tiefe ansteht, angelegt sind. Der Kreideuntergrund ist außerordentlich stickstoffarm. Der Gesamtstickstoffgehalt des Kreideuntergrundes bewegte sich in Analysen, welche 1942 in Geisenheim durchgeführt wurden, zwischen 0 und 16 mg je 100 g Boden, während in einer Tiefe von 35—50 cm in Geisenheimer Weinbergböden durchwegs N-Gehalte von 50—125 mg je 100 g Boden festzustellen sind.

Trotz des von Natur geringen N-Gehaltes der Champagne-Weinbergsböden gibt es dort Champagnerkellereien, die den Traubenlieferanten höhere Preise für die gelieferten Trauben bezahlen, wenn sie garantieren, in dem betreffenden Jahr ihre Weinberge nicht mit N-haltigen Düngemitteln gedüngt zu haben.

4. Tannin. Dieser adstringierende Stoff nimmt von Fraktion zu Fraktion zu. Die ersten Fraktionen haben am wenigsten davon, wodurch sie an Feinheit gewinnen.
5. Wie mit Tannin, so verhält es sich auch mit dem Aschengehalt. Die ersten Fraktionen sind also salzärmer. Auch dieser Umstand wirkt sich gärungsphysiologisch aus. Besitzt nämlich ein Wein mehr Basen, wie Ca, K, so bilden sich in ihm beim Schwefeln mehr Sulfite und Bisulfite. Letztere werden bei der nachfolgenden Schaumweingärung von der Hefe als Sauerstoffdonatoren benützt. Die Hefen reduzieren diese Schwefelsalze, wobei in der ersten Phase der Wein oxydativ beeinflußt wird (Ansteigen seiner rH-Zahl) und in der zweiten Phase sogar Schwefelwasserstoff, Sulfide und Polysulfide entstehen.
6. Phosphorsäure. Daß die ersten Fraktionen daran ärmer sind, bietet den Vorteil, daß einerseits diese Weine, selbst wenn sie einmal Eisen enthalten, weniger zum weißen Bruch, der aus Ferriphosphat besteht, neigen, andererseits ermöglicht ein niedriger Gehalt an Phosphorsäure niemals starke Bakterienentwicklungen.

Zusammengefaßt hat die in der Champagne übliche Art der fraktionierten Kelterung zur Folge, daß die Champagner-Grundweine ärmer an

Extraktstoffen, dafür reicher an freier Säure sind. Diesen Umständen verdankt der fertige Champagner seine leichte, flüchtige Art, seine Eleganz und „Süffigkeit“.

3. Ausbau und Schulung der sog. „Stillweine“.

Jedem versierten Schaumweinfachmann ist bekannt, daß die für nachfolgende Champagnisierung bestimmten Weine vorher einer Schulung bedürfen, die das Ziel hat, die Weine in ihr biologisches und chemisches Gleichgewicht zu bringen. Biologisches Gleichgewicht heißt, daß der Wein alle Hefe- und Bakteriengärungen schon im Faß durchgemacht hat und nicht mehr Neigung zu Mikrobenentwicklungen zeigt. Chemisches Gleichgewicht heißt, daß der Wein alle labilen Verbindungen in fester Form ausgeschieden und eine gewisse Stabilität in seiner Zusammensetzung erreicht hat. Dieses Ziel wird durch Abstiche und Schönungen erreicht.

In der Champagne wird der Grundwein in verhältnismäßig kleinen Gebinden, nämlich 200 l-Fässern, geschult und ausgebaut. Durch die Wahl zahlreicher kleiner Fässer anstatt weniger großer Fässer wird natürlich das Tempo des Ausbaues beschleunigt.

Große Vorteile bietet für die Vorbereitung eines Weines auf seine nachfolgende Champagnisierung die sog. „Blau- oder Möslingerschönung“, welche in Deutschland und Luxemburg erlaubt, aber in Frankreich verboten ist. Nicht nur, daß durch die Entfernung des Eisens die Gefahr eines späteren weißen, grauen oder schwarzen Bruches gebannt wird, sondern es werden durch das ausfallende Berlinerblau allein schon (häufig wird die Blauschönung noch mit einer Gelatine-Tannin-Schönung verbunden) allerfeinste Trübungsbestandteile mitgerissen und labile organische Stickstoffverbindungen zur Ausscheidung gebracht. Dadurch wird der Wein nicht nur klar, sondern auch stabiler.

Auf die Verminderung des Stickstoff-Gehaltes der Weine durch eine Blauschönung hat 1931 E. Vogt¹⁾ erstmalig hingewiesen, indem er zeigte, daß der Blautrub stets mehr Stickstoff enthält als die zugesetzten Schönungsmittel (Ferrozyankalium und Gelatine) an sich enthielten. A. Mihnea²⁾ hat 1941 in rumänischen Weinen nachgewiesen, daß dort die Blauschönung einen durchschnittlichen Rückgang des Stickstoff-Gehaltes der Weine von rund 26% verursacht. Verfasser³⁾ stellte 1942 in stark blaugeschönten, weil künstlich mit Eisen versetzten Rheingauer Weinen einen Rückgang des Gesamt-Stickstoffgehaltes von 704 mg/l auf 620 mg/l, von 620 mg auf 560 und von 729 auf 635 mg/l, also von rund 10—13% fest.

Auch K. Hennig⁴⁾ konnte an 11 Weinen einen Rückgang des Gesamtstickstoffgehaltes von 2,1—7,6% des Ausgangswertes, verursacht durch die Blauschönung feststellen. Er hat bei einem 1942er Wein den Stickstoff in 8 Fraktionen aufgeteilt, wobei sich zeigte, daß prozentual der Eiweißstickstoff am stärksten vermindert wurde.

1) Vogt, E. Die Ausfällung von Eiweißstoffen bei der Klärung der Weine mit Kaliumferrozyanid. Weinbau u. Kellerwirtschaft, Bd. 10, Nr. 5, 1931.

2) Mihnea, Ath. Analele Institutului de Cercetari Agronomice al Romaniei, Vol. XIII, S. 178, 1941.

3) Schanderl, H. Eine vergleichende Studie über Champagner und Schaumweinbereitung. Wein u. Rebe. H. 3/4 u. 5/6, 1943.

4) Hennig, K. Einige Fragen zur Bilanz der Stickstoffverbindungen im Most und Wein. Zeitschr. f. Lebensmittel-Untersuchung u. -Forschung, Bd. 87, S. 40—48, 1943.

Diese analytischen Daten von 4 Autoren zeigen übereinstimmend dasselbe Bild, daß tatsächlich eine Blauschönung den Gehalt an Stickstoffverbindungen der Weine herabsetzt. Was in der Champagne die fraktionierte Kelterung in bezug auf Stickstoffgehalt der Weine bewirkt, kann etwa nachträglich durch Blauschönung erreicht werden.

Eine Blauschönung empfiehlt sich nicht nur für Schaumweine, die nach dem Flaschengärverfahren, sondern ebenso für Schaumweine, die nach dem Großraumgärverfahren hergestellt werden sollen: denn neben dem Vorteil der Beseitigung der Gefahr eines Eisenbruches, dem Vorteil der Entfernung feinsten Trübungsbestandteile und labiler organischer Stickstoffverbindungen, bietet die Blauschönung noch die Gewähr, daß die Hefe nicht durch Eisen an der Angärung gehindert werden kann, denn im Kapitel „Faktor Eisen- und Kupfergehalt bei Gärungen“ auf Seite 168 wurde bereits darauf hingewiesen, daß Eisen oft in verhältnismäßig geringen Mengen die Umgärung eines Weines erheblich verzögern kann, wenn er eine niedrige Redoxzahl aufweist.

Aus all' dem mag zur Genüge hervorgehen, daß eine richtiggehende Schulung und Vorbereitung eines Weines für eine nachfolgende Champagnisierung unbedingt empfehlenswert ist und es grundfalsch wäre zu glauben, der Wein würde sich schon von selbst bei der eigentlichen Schaumweingärung reinigen und stabilisieren.

Weiterhin gehört zur Vorbereitung auf die eigentliche Champagnisierung, daß man sich ein Bild von dem Gehalt an Alkohol, Gesamtsäure, freier schwefliger Säure und an flüchtiger Säure verschafft, indem man eine Probe des Verstiches entweder selbst untersucht oder von einem Weinchemiker untersuchen läßt.

Der Alkoholgehalt soll vor der Füllung nicht unter 80 g/l und nicht über 100 g/l betragen. Beträgt der Alkoholgehalt unter 80 g/l, so besteht die große Gefahr, daß vor allem bei „Schnellfabrikation“ nach dem Zusatz des sog. „Expeditionslikörs“ der Schaumwein nochmals nachtrübt, indem die Hefe erneut zu gären beginnt. Beträgt der Alkoholgehalt mehr als 100 g/l, so besteht die große Gefahr, ja sogar Wahrscheinlichkeit, daß die Hefe den zugesetzten Zucker nicht mehr anzugären oder durchzugären vermag. Der Schaumwein erreicht dadurch nicht den nötigen CO_2 -Gehalt bzw. CO_2 -Druck von 4–6 Atm.

Der Gehalt an Gesamtsäure soll bei Schaumweinen um 8 g im Liter¹⁾ liegen. Liegt er unter 6 g/l so schmeckt der Schaumwein fade. In Zukunft wird man an Stelle des Wertes für die Gesamtsäure mehr Wert auf die pH-Zahl legen, weil sich in ihr der Gehalt an den für Schaumwein so wichtigen freien Säuren spiegelt. Ein Schaumwein sollte eine pH-Zahl um 3,0 herum haben. Ist die pH-Zahl höher als 3,5, so fehlt dem Wein die appetitanregende Wirkung.

Grundsätzlich sollte man keinen Grundwein zur „Füllung“ verwenden, der mehr als 25 mg freies SO_2 im Liter enthält. Nicht nur, daß die Hefe sonst zu lange Zeit zum Angären braucht, sondern sie erzeugt bei hohen Mengen freier und auch gesamter schwefliger Säure leicht Schwefelwasserstoff, der bei der Flaschengärung nicht entweichen kann, sich im Wein löst und nachher als „Schwefelböckser“ den Trinker irritiert und mißfällt.

¹⁾ Gerechnet als Weinsäure. Frankreich drückt die Säuregrade in Schwefelsäure aus. 1 g Schwefelsäure = 1,538 g Weinsäure.

Selbstverständlich achtet man darauf, daß der Grundwein nicht etwa zuviel flüchtige Säure aufweist. Bei weißem Schaumwein empfiehlt sich, nicht über 0,8 g und bei Rotsekt nicht über 1,2 g hinauszugehen, weil einerseits ein höherer Essigsäuregehalt die Qualität des Schaumweines herabdrückt und andererseits ein höherer Essigsäuregehalt die Arbeit der Hefe bremst und behindert.

In Zukunft wird man auch die Redoxzahl des Verstichs berücksichtigen. In etwa hat man bei Weißwein schon an seiner Farbe einen guten Anhaltspunkt. Ist die Redoxzahl zu hoch, dann zeigt der Wein eine über „goldgelb“ hinausgehende Farbe, ist die Redoxzahl zu niedrig, dann ist der Wein zu blaß in der Farbe. Die Ausgangsstufe sollte möglichst nicht über $rH = 20$ liegen.

4. Die Herstellung eines Hefeansatzes

Nirgendwo in der Weinbranche hängt so viel von der Reinhefe ab als bei der Schaumweinherstellung. Schon die Wahl der Rasse ist nicht gleichgültig; denn es muß nicht nur eine gärkräftige Heferasse sein, sondern sie darf vor allem nicht zur Maskenbildung neigen, sowie nach der vollzogenen Flaschengärung ein leicht abrüttelbares, sandiges Depot liefern. Weiterhin muß die Reinhefe in einer solch großen Individuenzahl dem Verstich (Cuvée) zugesetzt werden, daß die von Natur in ihm enthaltenen Hefen aller möglichen Gattungen und Arten, baldigst unterdrückt und überflügelt werden.

Der Bierbrauer kann in der Hefeanzucht dem Schaumweinhersteller ein Vorbild sein. Der Bierbrauer spricht von „Anführung“ der Hefe, d. h. er „führt sie an das zu vergärende Quantum Bierwürze in entsprechender Individuenzahl allmählich heran“. Dasselbe hat der Schaumweinhersteller zu tun. Je größer das Quantum der zu verarbeitenden Weinmenge ist, um so größer muß das Quantum des Hefeansatzes sein. Emil Manceau empfahl schon 1900 bis 1910 den französischen Champagnerkellereien die Verstiche mit 4 % gut gärenden Hefeansatzes zu versehen. Gewiß kann man auch mit 1–2 % Hefeansatzflüssigkeit befriedigende Resultate erzielen. Aber in schwierigen Fällen und wenn man schnell arbeiten will, ist die Empfehlung von Manceau absolut gerechtfertigt.

Dabei liegt der Schwerpunkt weniger in der Menge der Ansatzflüssigkeit, als in der „Heranführung“ der Hefe an die Bedingungen, die sie nachher im Großen vorfindet. Bei der Schaumweingärung handelt es sich um eine Umgärung, d. h. um die nochmalige Angärung eines an sich schon einmal, vielleicht schon zweimal vergorenen Weines von mindestens 10 Vol. % Alkoholgehalt. Außerdem hat der betreffende Wein schon verschiedene Schwefelungen und vielleicht auch schon Krankheiten und Fehler gehabt und dadurch schon verschiedene Behandlungen erfahren.

Daher ist die Hefe sobald als möglich schon bei der Vermehrungsanzucht an die zukünftigen Bedingungen, die sie in der Flasche oder im Großraum vorfindet, „heranzuführen“.

Eine große Schaumweinkellerei, welche eine Füllung von 100 000 l vor hat, benötigt dazu im Laufe der Füllung eine Hefeansatzmenge von 2–4 000 l. Die allererste Vermehrung wird sie in einem abgekochten und mit 100–200 g/l Zucker versetzten Wein (etwa 25–100 l) vornehmen. Wenn dieser erste Ansatz stürmisch gärt, wird sie bereits 50–100 l des gezuckerten Weines der geplanten Füllung zugeben, davon allmählich, je nach dem Gärverlauf des Ansatzes, immer mehr bis sie bei den für eine 2–4 %ige Impfung jeweils notwendigen

Mengen angelangt ist. Zuletzt sollen die Bedingungen so sein, daß die Hefe sozusagen den Übergang vom Ansatz zu der eigentlichen Füllung überhaupt nicht merkt.

5. Die Frage des Wertes von Zusätzen zu Schaumwein-Flaschengärungen

Die absolute Zwecklosigkeit des früher üblich gewesenen Zusatzes von Ammoniumsalzen wurde schon auf Seite 167 erläutert. Die Hefe findet in jedem normalen Traubenwein, sogar in dem geringsten, für mehrere Flaschengärungen ausreichende Mengen Stickstoffverbindungen vor. Die von Praktikern geäußerte Behauptung, daß die Zugabe sog. „Gärsalze“ die Perlung (das Mousseux) der Schaumweine günstig beeinflussen würde, entbehrt jeglicher naturwissenschaftlicher Grundlage.

Der französische Schaumweinwissenschaftler Emil Manceau hat 1902 in der Hauszeitschrift der weltbekannten Champagnerfirma Moët et Chandon über umfangreiche Versuche mit den verschiedensten Zusätzen zu Schaumweinfüllungen wie z. B. von Phosphaten, Weinsäure, Zitronensäure, Kaliumoxyd, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat und Kaliumphosphat, berichtet. Manceau fand schon damals, daß alle diese Zusätze keinen nennenswerten Einfluß „sur la prise de mousse“ haben.

Es gibt Schaumweinhersteller, die gerne Laien weismachen, daß die ganze Kunst der Schaumweinfabrikation in dem Wissen der richtigen Zusätze und ihrer Dosierungen läge. Indessen sind fast alle Zusätze außer Tannin völlig entbehrlich. Es gab Schaumweinfachleute, welche auf aus Frankreich bezogene geheimnisvolle Zusätze mit Phantasienamen schwörten. Wenn es sich um Gerbstoffpräparate handelt, dann ist es etwas anderes; denn es ist leicht möglich, daß französische Schaumweinpraktiker im Laufe der Zeit empirisch ermittelt haben, welche Tanninherkünfte (bzw. welche Lieferpflanzen) sich am günstigsten auf die Sedimentation, Depotbildung und Rüttelfähigkeit der Hefe auswirken. Wenn es sich aber um Präparate wie „Phosphatés titrés“ handelt, die aus nichts anderem wie aus basischem Kalium-Ammoniumphosphat von der Formel $\text{NH}^4 \cdot \text{KHPO}^4 + 4 \text{H}_2\text{O}$ bestehen, so ist der Import solcher Präparate absolut sinnlos.

Manche Schaumweinpraktiker schwören auf die günstige Wirkung, die Gelatine- oder Hausenblasezusätze auf die Klärung und Rüttelfähigkeit des Schaumweines ausüben würden. Wenn es sich darum handelt einen Schaumwein möglichst schnell verkaufsfertig zu machen, so mag es sicher Fälle geben, wo sich ein derartiger Zusatz günstig auswirkt. Eine Verallgemeinerung auf alle Fälle ist jedoch abzulehnen; denn wenn ein Schaumwein, wie es bei Qualitätsmarken und Qualitätsfirmen oder in der Champagne traditionell gehandhabt wird, ein Jahr und länger auf der Hefe liegt und es befindet sich im Hefedepot ausgeflockte Gelatine oder Hausenblase, so stellt diese ein ausgezeichnetes Substrat für Bakterien dar. Letztere finden zunächst auf kleinstem Raum innerhalb des Depots günstige Entwicklungsbedingungen, vor allem organische Stickstoffverbindungen. Selbst wenn sie den Wein selbst nicht angreifen, so können die Zersetzungsprodukte der Gelatine oder Hausenblase sich geschmacklich im Wein bemerkbar machen.

Das einzige Zusatzmittel, das bei Schaumweinflaschengärungen, zwecks Förderung der Rüttelfähigkeit der Hefe gerechtfertigt ist, ist Tannin. Meistens geben die Schaumweinhersteller je Hektoliter 2–5 g zu. Aber selbst dieser Zusatz ist häufig überflüssig, da unsere Weine immer mehr Tannin als die Cuvées und die premières tailles der Champagne enthalten.

Wie Tannin auf die Hefe wirkt, wurde in einem eigenen Kapitel auf Seite 172 gezeigt. Charakteristisch ist, daß die wilden sog. „Apiculatus-Hefen“ bedeutend empfindlicher sind als die Kulturhefen. Weiterhin ist charakteristisch, daß bei Gerbstoffgegenwart die Gärkurven zunächst steil anlaufen, dann plötzlich abknicken. Die Hefe stellt also sehr unvermittelt die Gärung ein.

Die günstige Wirkung eines Tanninzusatzes bei einer Flaschengärung könnte daher so zustandekommen, daß

1. die kleinzelligen, leichteren Apiculatushefen, welche wegen ihrer Leichtigkeit beim Rütteln der Flaschen in der Sedimentation nachhinken und die von den Rüttlern gefürchteten „Schwänze“ des Hefedepots bilden, besser unterdrückt werden,
2. daß die Kulturhefe selbst unter dem Einfluß des Tannins prompter ihre Sprossungstätigkeit einstellt und am Schlusse des Gärpensums keine neuen Zellen mehr bildet, die immer kleiner und leichter sind, als diejenigen, welche das Glück hatten anfangs der Gärung, unter günstigeren Bedingungen, zur Welt zu kommen. Diese zuletzt geborenen Hefeindividuen besitzen kleinere Dimensionen, dünneres Protoplasma, daher geringeres spezifisches Gewicht, geringere Sedimentiergeschwindigkeit, und hinken deswegen beim Rütteln als „Schwanz“ (wie der Schaumweinküfer sagt) nach. Diese Dinge spielen aber nur eine Rolle, wenn auf schnelle Fertigung des Schaumweines Wert gelegt wird.

6. Die Gärtemperaturen bei der Schaumweinbereitung

Da der echte Champagner nach den Vorschriften des französischen Weingesetzes ein ganzes Jahr auf der Hefe gelegen haben muß, ehe er degorgiert wird, hat es der Champagnerhersteller mit der Gärung nicht eilig. Man kennt dort keine heizbaren sog. „Gärlokale“, sondern die gefüllten Flaschen werden in den oft kilometerlangen, in reinen Kreidefelsen gehauenen Kellergängen zu Stößen aufgesetzt. Diese Kreidefelsenkeller haben meist eine sehr konstante Temperatur, Sommer wie Winter, von 9–11 ° C. Bei dieser relativ niedrigen Temperatur vollzieht sich die Champagnergärung langsam. Sie ist also im Prinzip eine Kaltgärung.

Schon außerhalb desjenigen, vom französischen Weingesetz genau festgelegten Gebietes, in dem allein der Schaumwein die Bezeichnung „Champagne“ tragen darf (siehe Karte), oder gar außerhalb Frankreichs, wurden die Schaumweine (vins mousseux) à la méthode champenoise in einer kürzeren Zeit und nicht mit einer Kaltgärung, sondern mit einer Warmgärung hergestellt. Die Kellereien hatten für diesen Zweck eigene heizbare „Gärlokale“ errichtet, in denen bei Temperaturen von 18–25 ° C die Flaschen zur Gärung lagerten. Die Gärung vollzieht sich bei solchen Temperaturen, je nach Alkoholgehalt des Weines in 4–14 Tagen.

Erst im letzten Krieg ist in Deutschland in dieser Hinsicht ein Wandel eingetreten, nachdem Verfasser 1938 eine kälteresistente Heferasse (Champagne Epernay) selektionierte, welche daneben alle an eine Schaumweinhefe zu stellenden Eigenschaften besaß. In der Kohlenknappheit des Krieges bediente sich die deutsche Schaumweinindustrie zuerst zögernd, dann aber immer ausgedehnter dieser neuen Kaltgärhefe und lernte dabei, daß man

ohne erhebliche Zeitverluste auf Gärlokale und Warmgärung verzichten kann. Außerdem zeigte sich, daß die Kaltgärung neben den Vorteilen der Einsparung von Heizmaterial (im Winter) und von Arbeitsstunden für das Beschieken und Ausräumen der Heizlokale, auch noch andere Vorteile bietet, wie z. B.:

1. Bei tieferen Gärtemperaturen können sich die unerwünschten Bakterien neben der Hefe lange nicht in dem Maße mitentwickeln als bei Warmgärung.
2. Die Kaltgärung fördert die Ausscheidung von Weinstein.
3. Bei niedrigen Temperaturen verläuft die Gärung zwar langsamer, aber kontinuierlich und allmählich. Die Drucke werden nicht so rasch gesteigert wie bei warmer Gärung, infolgedessen ist der Ausfall durch Flaschenbruch bedeutend geringer.
4. Die Gärungskohlensäure löst sich bei niedrigen Gärtemperaturen besser im Wein. Die Verbindung des Kohlendioxyds mit dem Wein ist eine innigere, woraus ein feineres „Mousseux“ resultiert.

Aus diesen Gründen wird die Kaltgärung auch bei der Schaumweinherstellung im Großbraumgärverfahren empfehlenswert sein, zumal beim Großbraumgärverfahren ein Faktor auftritt, der bei der Flaschengärung keine Rolle spielt, nämlich die Selbsterwärmung großer Weinmengen bei der Gärung.

An modernen Tanksektanlagen sind neuerdings regelmäßig Kühlmäntel angebracht, welche jederzeit eine Herabminderung der Selbsterwärmung und eine langsame Kaltgärung erlauben.

7. Die biologischen und biochemischen Vorgänge in der Flasche während und nach der Schaumweingärung

In den Jahren 1942—1945 versuchten wir uns in Geisenheim auf experimenteller Grundlage einen Einblick in die Vorgänge zu verschaffen, welche sich im ersten Jahr in einem Schaumwein bei der Flaschengärung abspielen. Es wurde eine große Zahl sowohl von Proben der Schaumweinindustrie als auch von selbst angesetzten Füllungen auf Hefezellenzahl, Hefetrockengewicht, Stickstoffgehalt und Aneurin Gehalt der Hefe und des Weines, Anzahl der lebenden und toten Hefen, Schimmelpilzsporen und Bakterien untersucht.

Es interessierten uns hauptsächlich folgende Fragen:

1. Wieviel Hefe wächst zahlen- und gewichtsmäßig bei der Flaschengärung eines Schaumweines?
2. Der Einfluß der Hefe während und nach der Gärung
 - a) auf den Stickstoffgehalt,
 - b) „ „ Aneurin-(Vitamin B₁)-Gehalt des Schaumweines.
3. Wie lange bleiben Hefezellen im Schaumwein am Leben?

Zur Frage Nr. 1. In 14 von der Schaumweinindustrie zur Verfügung gestellten, nicht entheften Schaumweinen ließen sich im Durchschnitt je Flasche zu 750 cm³ 14.75 Milliarden und in 27 eigenen Füllungen 21,2 Milliarden Hefezellen zählen. Die Zahlen selbst schwankten zwischen 7.3 und 31.9 Milliarden Hefezellen. Diese Schwankung erscheint auf den ersten

Anblick sehr groß. Die Untersuchungen zeigten jedoch, daß die Größe der bei einer Schaumweingärung je Flasche wachsenden Hefepopulation sehr von verschiedenen Bedingungen abhängig ist. Zunächst spielt dabei die Zusammensetzung des Grundweines, sein Alkohol-, Aneurin-, Säure- und Stickstoffgehalt eine Rolle. So wuchsen in einem Tresterwein, der als Grundwein benutzt wurde, je Schaumweinflasche zu 750 cm³ im Durchschnitt von 17 Flaschen 7,5 Milliarden, in 17 Flaschen mit normalem Wein dagegen 18,5 Milliarden Hefezellen, also das 2,47fache.

Als Maß für die gewachsene Hefemenge ist die Anzahl der Zellindividuen das sicherste, obwohl auch diese nach der eigentlichen Gärzeit niedriger wird, da ein Teil der Zellen völlig zerfällt und nicht mehr als Zellen gezählt werden

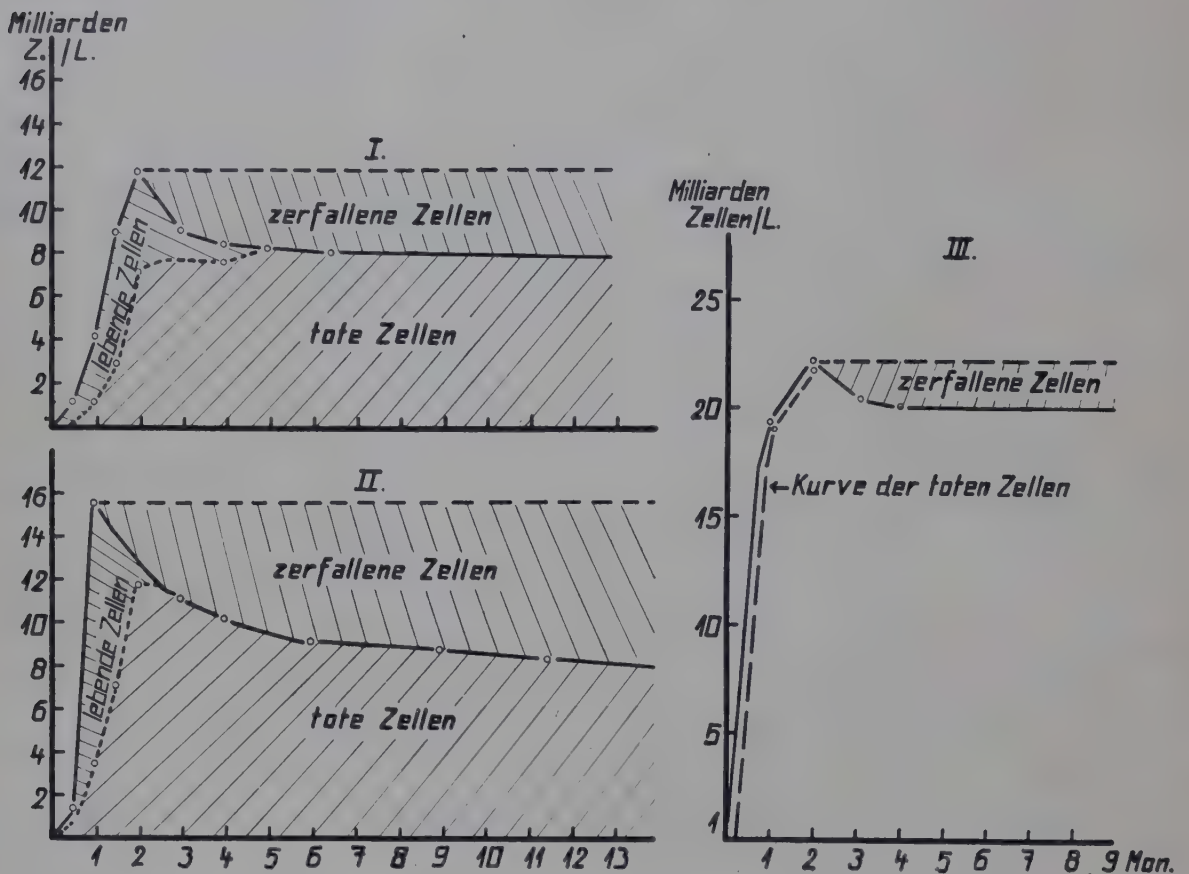


Abb. 103. Graphische Darstellung der Ergebnisse 9—13 Monate lang durchgeführter Hefezählungen dreier Schaumweinflüllungen.

kann (siehe Abb. 103). Dagegen ist das Trockensubstanzgewicht als Maß für die jeweils gewachsene Hefemenge unbrauchbar, da die Trockensubstanz, wie Abbildung 104 eindeutig zeigt, nach der Gärung von Monat zu Monat abnimmt. Man könnte höchstens die Trockensubstanzgewichte physiologisch gleichaltriger Hefedepots miteinander vergleichen; denn die Abbildung 104 zeigt uns deutlich, daß das Hefetrockengewicht nach der eigentlichen Gärung, von Monat zu Monat geringer wird. Im Laufe von 13 Monaten ging das Gewicht der Hefetrockensubstanz bis auf 55—82% des ursprünglichen Gewichtes zurück.

Dieser in allen 4 Versuchsreihen übereinstimmende Befund weist deutlich darauf hin, daß die Hefe nach Vollzug der Gärung wieder Stoffe an den Grundwein zurückgibt, welche sie ihm vorher beim Aufbau der Zellen entrissen hatte. Die stärkste Abgabe erfolgte in der Zeit vom 1. auf den 2. Monat der Lagerung des Weines auf der Hefe.

Wenn das Hefedepot an den darüberlagernden Schaumwein während der Lagerung Stoffe abgibt, so war anzunehmen, daß dabei stickstoffhaltige Substanzen eine bedeutende Rolle spielen. Daher wurde in den 4 Experimentalfüllungen 9–13 Monate hindurch auch der N-Gehalt des Schaumweines und des Hefe-

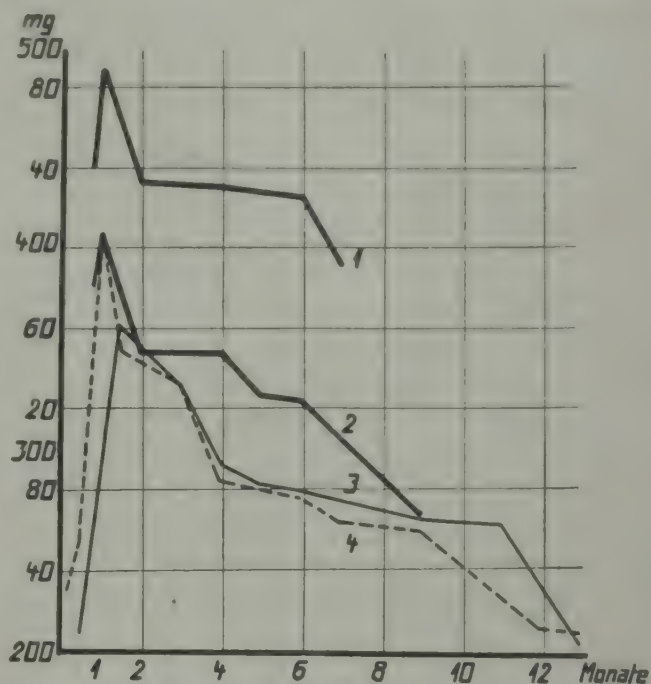


Abb. 104. Die Veränderung des Hefe-Trockengewichtes in 1 Liter Schaumwein im Laufe von 12 ½ Monaten 4 verschiedener Füllungen.

depots analytisch verfolgt. In der Tat ließ sich die langsame Abgabe von Stickstoff des Hefedepots einerseits und eine langsame Zunahme des Stickstoffgehaltes im Schaumwein bei der Lagerung auf der Hefe andererseits eindeutig nachweisen.

Zunächst erfolgt durch das Wachstum der Hefezellen ein starker Abstieg des N-Gehaltes des Grundweines. Er ist natürlich nicht so stark wie derjenige, den Hennig und Ohske in 1941er und 1942er Traubenmosten

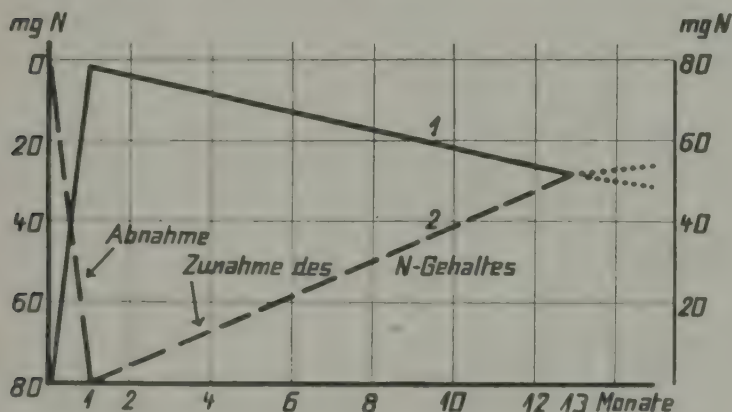


Abb. 105. Gesamtdarstellung der Untersuchungen über die N-Aufnahme und N-Abgabe der Hefe (1) und über N-Rückgang und N-Zunahme des Schaumweines (2) während 13 monatiger Lagerung der Hefe.

gefunden haben (siehe Abb. 106). In einem Schaumwein stehen der Hefe im Liter nur 25–30 g Zucker zur Verfügung, während die Naturmoste Hennigs 140 und 196,8 g/l Zucker aufwiesen.

Der Rückgang des N-Gehaltes des Schaumweines betrug während der Gärung in unseren Versuchen 70–80 mg, derjenige in Hennigs Mostuntersuchungen 535,8–558 mg. Unmittelbar nach Beendigung der Gärung setzt

auch im Schaumwein, ganz ähnlich wie in den Jungweinen, die Hennig und Ohske untersuchten, wieder ein Anstieg des N-Gehaltes der Schaumweine ein. Die Analysen des Hefetrockengewichtes, des N-Gehaltes der Hefe und des Schaumweines bestätigen sich gegenseitig. Auch die N-Analysen beweisen, daß die Schaumweinhefe während der Lagerung in den ersten 9–13 Monaten bis 33% ihres Stickstoffgehaltes wieder an den Wein zurückgibt.

Unter den N-haltigen Substanzen interessiert uns vor allem auch das Aneurin (-Vitamin B₁), weil es sich elegant mittels der Schöpferschen *Phycomyces*-Methode erfassen läßt (siehe Seite 47). Da bekannt ist, daß die Hefe zur Aneurinsynthese befähigt ist, interessiert die Frage, ob etwa bei der

Schaumweingärung und anschließenden teilweisen Auslaugung der Hefe während der Lagerung und des Rüttelns des Schaumweines, ein Vitaminisierungseffekt eintritt.

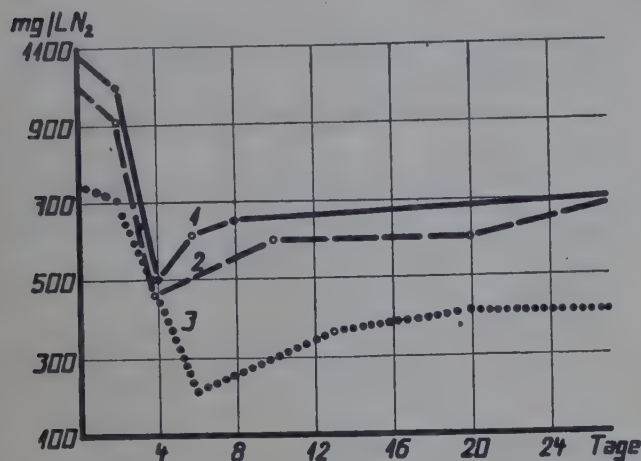


Abb. 106. Die Bewegung des Gesamtstickstoffs in 3 gärenden Weinen. 1 und 2 waren 1941er, 3 war 1942er Wein. 1 war zentrifugiert und 2 ultrafiltriert. (Nach Hennig und Ohske.¹⁾)

Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in Abbildung 107 dargestellt. Sie wurden bei einem kalt (bei 10–12° C) vergorenen Schaumwein, der von Hause aus, da er Tresterwein enthielt, einen geringen Aneurin Gehalt aufwies, durchgeführt. Man sieht aus den Kurven, daß die Hefe während der Vermehrung zunächst den Aneurinspiegel des Weines senkt und sozusagen gierig das vorhandene Aneurin an sich reißt. Dann erfolgt aber während der Gärung ein verhältnismäßig starker Anstieg des Aneurin Gehaltes des Weines. Die Hefe synthetisiert Aneurin, das es als Co-Carboxylase während der Gärung benötigt. Dabei diffundiert merkwürdigerweise ein großer Teil aus den Zellen heraus in den Wein, während in den Hefezellen selbst nur rund der 10. Teil zu finden war. Sowie aber die Gärung zu Ende ist, sinkt schnell und rapid der Aneurin Gehalt sowohl im Wein als auch in der Hefe selbst. Wollte man also den Wein als Vitaminquelle benützen, so müßte man ihn im gärenden Zustand trinken, so wie es mit dem sogenannten „Sauser“ tatsächlich in verschiedenen Weinbaugebieten heute noch üblich ist.

Ein Vitaminisierungseffekt ist zwar vorhanden, der Vitaminspiegel des Weines wurde in unserem Versuch um rund $\frac{1}{3}$ gehoben. Aber in Anbetracht des relativ niedrigen Aneurin Gehaltes der Weine fällt dieser Betrag praktisch wenig ins Gewicht. Aber diese Vorgänge zeigen wiederum, daß Stoffe vom Wein in die Hefe und später wieder von der Hefe in den Wein wandern. Von den zahlreichen Enzymen und Vitaminen der Hefe können wir dies einstweilen am besten anhand des Vitamins B₁ verfolgen.

¹⁾ Fr. Dr. Margit Draczynski bin ich für die sorgfältige Durchführung dieser schwierigen Arbeit zu besonderem Dank verpflichtet.

Der Aneuringehalt der Hefe, welche eine Schaumweingärung vollzog, ist unter allen Hefeherkünften der niedrigste. Dies zeigt folgende Gegenüberstellung:

Bierhefe enthält	1100—15000 γ je 100 g Trockengewicht	
Backhefe enthält	600—2000 γ „ „ g	..
Holzzuckerhefe	1500—2400 γ „ „ g	..
Hefe aus natürl. Traubenmost . .	400—2000 γ „ „ g	..
Mosthefe unmittelb. in stürm.		..
Gärung	3000—11200 γ „ „ g	..
Hefe aus Schaumwein je nach Alter	0—100 γ „ „ g	..

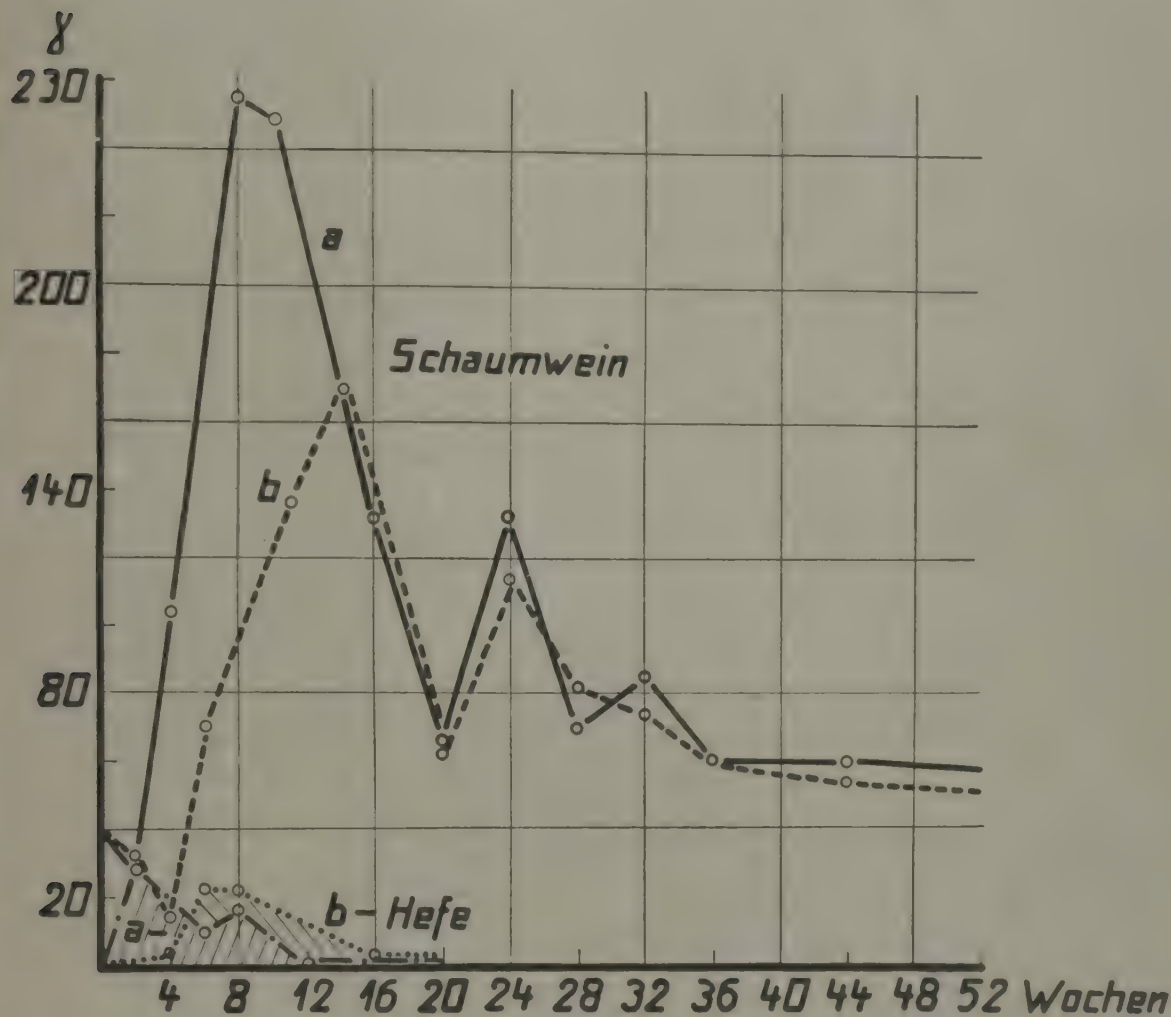


Abb. 107. Graphische Darstellung der Aneuringehalte von Hefe und Schaumwein zweier Füllungen (a und b) während 52 Wochen. Der verwendete Grundwein hatte 40 g Aneurin/Liter.

Die Aneuringehalte der Schaumweine lagen zwischen 23 und 266 μ im Liter, der höchste wurde in einem Abmannshäuser Rotsekt gefunden.

Wenn auch der Aneuringehalt eines Schaumweines kein absolutes Qualitätsmaß darstellt, so weisen doch sehr niedrige Gehalte auf eine sehr geringe Qualität des verwendeten Grundweines, hohe Zahlen dagegen auf eine hohe Qualität hin.

Von praktischer Bedeutung ist die Frage, wie lange die Hefe sich im fertigen Schaumwein am Leben zu erhalten vermag.

Die Abbildung 103 zeigt, daß die Hefe im Schaumwein verhältnismäßig schnell abstirbt. Schon bei der Gärung findet man einen wechselnd hohen Prozentsatz plasmolysierter, daher toter Zellen. Nach 2, spätestens 5 Monaten sind 99,99% der Zellen tot. Aber was bedeuten 0,01%

bei einer Population von 15 Milliarden Hefezellen je Flasche? 0,1% bedeuten immer noch 15 Millionen und 0,01% noch 150000 Hefezellen!

Praktiker glauben vielfach ein richtig degorgierter Schaumwein, ganz gleich ob kurz oder lange auf der Hefe gelagert, könne keine lebenden Hefen mehr enthalten. Indessen zeigen unsere Untersuchungen, daß oft selbst 1—1 $\frac{3}{4}$ Jahre auf der Hefe gelagerte, fertige Schaumweine, die äußerlich trübungsfrei erschienen, immer noch 6750 bis 200000 lebende Hefezellen je Liter enthielten. Wir fanden so-

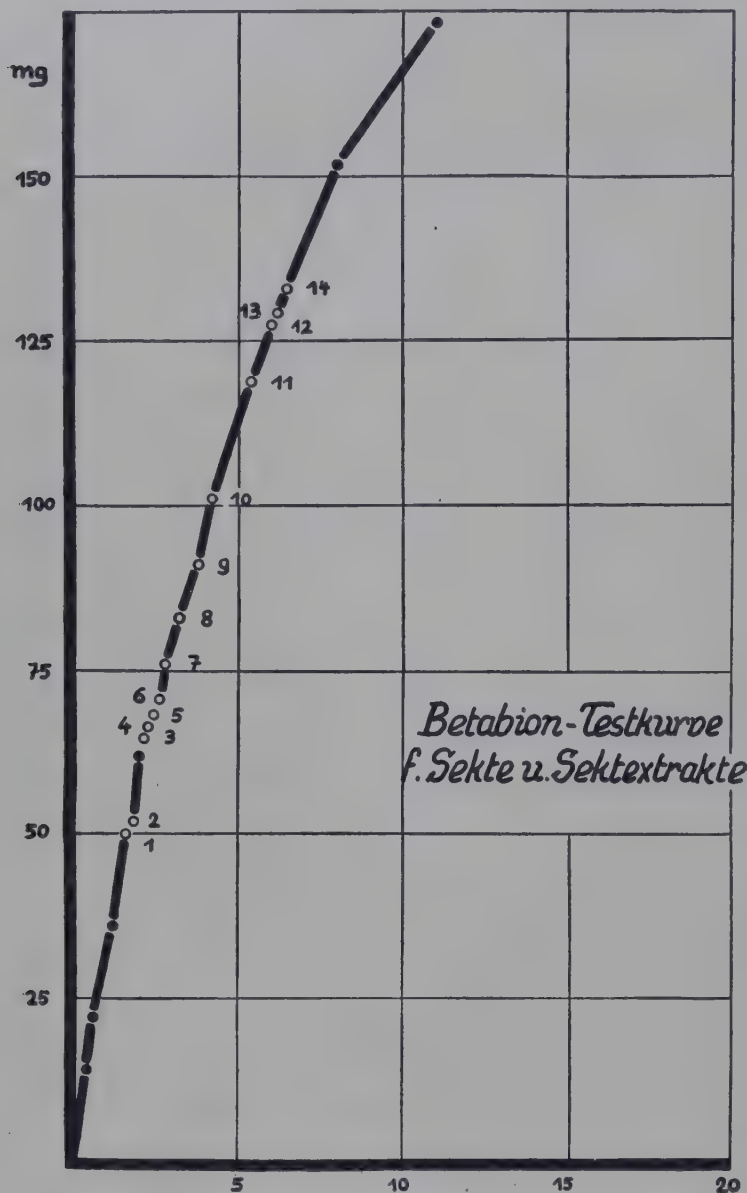


Abb. 108. Auf der Senkrechten sind die *Phycomyces*-Myzelernnt in mg, auf der Waagrechten die Aneurinwerte in γ eingetragen. Die bezifferten Kreise in der Kurve ergaben die Testung von je 3 ccm 14 verschiedener Sektpuben.

gar 2 $\frac{1}{2}$ Jahre alte, dosierte Schaumweine, welche im Liter 2,2 Millionen Hefezellen enthielten. Der größte Teil dieser Hefezellen war jedoch erst nach der Dosierung zur Entwicklung gekommen. Die Klarheit dieser Sekte war zwar nicht erstklassig, aber durchaus nicht zu beanstanden.

Je länger natürlich ein Schaumwein auf der Hefe lagert, um so mehr nimmt im allgemeinen der Gehalt an lebenden Zellen ab. Enthält aber ein Schaumwein neben Kulturhefen auch noch *Apiculatus*-Hefen, so ist zu berücksichtigen, daß letztere mit einer größeren Lebensfähigkeit ausgezeichnet sind

und die Kulturhefen weit überdauern können. Wir fanden in einem 17 Jahre alten echten Champagner aus einem Hause von Weltruf zu unserem Erstaunen noch lebende Apiculatus-Hefen. Die Apiculatus-Hefen können wegen ihrer langen Lebensfähigkeit unter Umständen auch einige Jahre auf dem Hefedepot gelagerten Sekte nach der Dosierung, wenn auch nicht anzugären, so doch so zu trüben, daß das Aussehen des Sektes Schaden leidet.

All diesen unangenehmen Eventualitäten geht derjenige Praktiker aus dem Weg, der die Grundweine vor der Füllung so filtriert, daß wenigstens die in ihnen noch vorhandenen Hefezellen entfernt werden.

So kamen wir zu einer weiteren wichtigen Frage:

Wenn fast immer noch lebende Hefezellen nach der Entkefung im Schaumwein verbleiben, warum gären diese in der Regel den im zugesetzten Expeditionslikör enthaltenen Zucker nicht mehr an? Dafür sind in der Hauptsache 2 Faktoren verantwortlich: 1. der Alkoholgehalt und 2. der Sauerstoffmangel bzw. die Redoxpotentialstufe des fertigen Schaumweines.

Es ist eine alte Erfahrungstatsache, daß fertige Schaumweine erst bei einem Alkoholgehalt um 11 Vol. % herum eine Gewähr bieten, daß die Hefen den Expeditionslikör nicht mehr erneut angären. Daher ist es immer üblich gewesen, den Grundwein, wenn er nicht etwa 10 Vol. % Alkoholgehalt aufwies, ihn auf diese Stufe aufzugären, ehe er für Füllungen verwendet wurde. In den Jahren 1945—1949 wurde häufig gegen diese Grundforderung eines 10 Vol. %-Alkohol-Ausgangsgehaltes verstoßen. Die Folge war, daß diese Schaumweine nicht klar blieben, die Hefe wieder zur Entwicklung kam und den Expeditionslikör angor, vor allem auch dadurch, daß die Schaumweine zu kurze Zeit auf der Hefe lagen.

Eine erneute Angärung kann aber auch in einem fertigen Sekt bei einem Alkoholgehalt von 11 Vol. % und darüber eintreten, und zwar dann, wenn entweder durch den Expeditionslikör das Redoxpotential des Sektes zu stark gehoben wird oder der Grundwein von Anfang an ein zu hohes Redoxpotential oder mit anderen Worten zu viel Sauerstoff gelöst aufwies. In diesem Fall regt der höhere Sauerstoffgehalt die noch lebendigen Hefezellen zur Sprossung, Zellenbildung und schließlich zur Angärung des Expeditionslikörs trotz eines Alkoholgehaltes von 11 Vol. % an.

Das Redoxpotential des fertigen Schaumweines sollte aber nicht allein wegen der Gefahr einer Hefenachtrübung, sondern auch aus Geschmacksgründen keine rH-Zahlen über 19.5 aufweisen. Frische und belebende Wirkung zeigt ein Schaumwein nur bei rH-Zahlen von 16.5—19.5, der Optimalbereich liegt zwischen 17.0 und 18.5. Sind seine rH-Zahlen über 19.5, so wirkt der Schaumwein ermüdend, unharmonisch und zu sättigend. Wir haben in Geisenheim von 1943—1949 eine große Anzahl von Schaumweinen des Handels auf ihre rH-Zahlen untersucht und obige Zusammenhänge aus dem Zahlenmaterial herauslesen können.

8. Fehler und Krankheiten des fertigen Schaumweines

Abgesehen von dem Fehler der Hefenachtrübung eines Schaumweines tritt eine vom Praktiker als „Blauwerden“ bezeichnete Erscheinung auf, die verschiedene Ursachen haben, Fehler oder Krankheit sein kann. Eine feine

Trübung, die bedingt, daß der Wein im durchfallenden Licht einen bläulichen Schimmer zeigt, kann herrühren

1. von Eisenphosphatausscheidung,
2. von Ausfällung leblosen Eiweißes,
3. von Bakterien, vor allem des Typus *B. gracile*.

Eisenphosphattrübungen sind seit der Einführung der Blauschönung oder des „Möslingerns“ sehr selten geworden. Die nachträgliche Ausfällung von leblosem Eiweiß ist zuweilen das Charakteristikum bestimmter, vor allem trockener Jahrgänge. Bei 1947er Weinen waren sie so häufig, daß man sie in der Praxis 47er Trübungen nannte. Über diese Erscheinung will ich mich nicht auslassen, weil sie eine weinchemische Angelegenheit ist und im Band „Chemie des Weines“ behandelt wird.

Eine biologische Angelegenheit ist dagegen das Wiedererscheinen von Säureabbau- bzw. Milchsäurebakterien im fertigen Schaumwein. Diese Erscheinung kann in verschiedenen Abstufungen auftreten, angefangen von einer einfachen staubigen Nachtrübung, über einen regelrechten biologischen Säureabbau bis zu einem regelrechten Milchsäurestich der fertigen Schaumweine.

Würden alle Grundweine von Mosten stammen, die nach dem Prinzip der Champagne, also fraktioniert gekeltert werden und würde wie dort prinzipiell der Nachdruck (*la rebêche*) nicht in die Grundweine gelangen, würde bei uns das biologische, also bakteriell bedingte Blauwerden der Schaumweine ebenso selten sein wie im Champagner.

Da aber die Grundweine der deutschen Schaumweinfabrikation in der Regel normal gekelterte Weine sind, kommt es bei uns nicht selten vor, daß der Schaumwein nach der alkoholischen Gärung (Hefegärung) nochmals eine Bakteriengärung durchmacht. Findet sie noch auf der nicht entheften Flasche statt, so resultiert daraus lediglich ein bedeutend schwierigeres Abrütteln des Hefedepots. Bedeutend unangenehmer ist es, wenn die Bakterienentwicklung erst nach der Entheftung, im fertigen Sekt einsetzt. Begünstigt wird eine solche Bakterienentwicklung vor allem durch höhere Lagertemperaturen.

Der Schaumweinhersteller kann sich gegen nachträgliche Bakterienentwicklung nur dadurch schützen, daß er den Grundwein genügend lange Zeit vorher im Faß ausbaut und ihm Gelegenheit gibt, diese Entwicklungen schon vor der Flaschenfüllung zu absolvieren. Der Grundwein muß eben vor der Füllung in ein chemisches und biologisches Gleichgewicht gebracht werden.

Ist ein wertvoller Schaumwein in der Kellerei nach der Fertigstellung nochmals bakterientrüb geworden, so gibt es als letzte und einzige Möglichkeit die, die Flaschen nochmals auf die Rüttelpulte zu stecken, die Bakteriendepots auf die Korken zu rütteln und nochmals zu degorgieren.

9. Ein Ausblick auf die kommende Entwicklung der Schaumweintechnik

Wir leben in einem Zeitalter, in dem sich eine Entwicklung anbahnt, dahingehend, daß an Stelle der in der Champagne erfundenen Flaschengärmethode in steigendem Maße Großraumgärverfahren treten. Es ist hier nicht der Platz die kaufmännischen und technischen Vorteile der Großraumgärverfahren zu schildern. Hier soll in unparteiischer Weise lediglich Flaschen-

gar- und Großraumgärverfahren von mikrobiologischer und biochemischer Seite aus betrachtet werden.

Die Großraumgärverfahren sind in der Zeit ihrer Entstehung zunächst allein vom Techniker entwickelt worden. Die Probleme sind zunächst als rein technische aufgefaßt worden. Indessen ist eine jede Gärung im Grunde eine biologisch-chemische Angelegenheit. Wenn die Techniker behaupten, die Gärungsvorgänge wären in einem Großbehälter die gleichen, wie in einer Champagnerflasche, so haben sie wohl recht. Wenn sie aber behaupten, die Endprodukte wären die gleichen, so sind sie im Unrecht und die Verteidiger des Flaschengärverfahrens haben recht, wenn sie solchen Auffassungen mit aller Entschiedenheit entgegenreten.

Nun gestatten uns aber die auf Seite 199 dargestellten wissenschaftlichen Untersuchungsergebnisse als neutrale Schiedsrichter in die Kontroverse Flaschengärung-Großraumgärung einzutreten. Die Anhänger des Flaschengärverfahrens bekommen unbedingt recht, wenn sie behaupten, mit dem Vollzug der alkoholischen Gärung allein ist das Verhältnis Hefe zum Wein noch nicht zu Ende. Unsere Untersuchungen zeigen in aller Klarheit, daß die Hefe zuerst Stoffe dem Wein entnimmt, transformiert und lebend oder tot, also aktiv oder passiv, wieder dem Wein zurückgibt.

Wenn ein Schaumwein in einem Tank lediglich vergoren und unmittelbar darnach von der Hefe getrennt wird, so ist nachher der Wein ärmer an bestimmten Stoffen als er vor der Einfüllung war.

Dasselbe ist jedoch auch der Fall, wenn ein flaschenvergorener Schaumwein schnell fabriziert, also nach der alkoholischen Gärung anschließend gerüttelt und entheft wird. Es stehen also nicht Großraum- und Kleinraum-(= Flaschen)gärung als zwei total verschiedene Prinzipien gegenüber, sondern in Wirklichkeit nur Schnell- und Langsamfabrikation; denn auch bei der Flaschengärung können die in der Hefe festgelegten und erzeugten Stoffe nur dann in den Wein gelangen, wenn er genügend lange Zeit auf der Hefe liegt. Nach unseren Versuchen waren dazu mindestens 5 Monate nötig.

Flaschengärung allein ist noch lange keine Garantie für Qualität oder für ein wirkliches Veredlungsverfahren.

Eine jede technische Neuheit muß ihre Kinderkrankheiten überwinden, bleibt auch nicht im Anfangsstadium stehen, sondern wird mit der Zeit verbessert und vollkommener. Unsere Untersuchungen sind in der Lage, dem Großraumgärverfahren die Punkte aufzuzeigen, die verbessert werden müssen.

Wenn es der Großraumgärtechnik gelingt, die von der Hefe dem Wein entnommenen Stoffe wieder an den Wein zurückgelangen zu lassen und ein ebenso intimes Verhältnis zwischen der Hefe und dem Wein zu schaffen, wie es in der 750 ccm-Flasche möglich ist, dann sind keine Qualitätsunterschiede zu Ungunsten des Großraumgärverfahrens mehr möglich. Bei dem hohen Stand der heutigen Technik ist es absolut keine Unmöglichkeit diese Gesichtspunkte zu berücksichtigen und die bisherigen biochemischen Mängel, die den bisherigen Großraumverfahren vielfach noch anhafteten, zu beseitigen.

Wenn dies gelungen ist, werden die Großraumgärverfahren für die Sektherstellung eine wesentliche Vereinfachung darstellen.

Aufgabe des Wissenschaftlers ist nicht, die eine oder die andere Sache zu propagieren, sondern zu zeigen, worauf es ankommt.

Sach-Verzeichnis

Acetale.	63	Bullera.	71	Gärungschema.	26
Adermin.	47	Buttersäurebakterien	122	Gärung, Chemismus.	26
β -Alanin.	52			Gärung, Definition.	25
Algenpilze.	127	Campher.	35	Gärungsmonilien.	96
Aminopolypeptidase.	45	<i>Candida tropicalis</i> 58, 74,		Gärung des Mostes.	25
Ampullenhefen.	181	„ <i>variabilis</i>	96	Gerbstoffgehalt.	172
<i>Amylomyces Rouxii</i> 129		Carboligase.	46	<i>Geotrichum lactis</i>	143
Aneurin.	47, 202	Carboxylase.	27	Glutaminsäure.	51, 53
Antibiotika.	182	Carotinoide.	47	Glutathion.	51
Antibiosis.	182	Champagner.	189	Glyzerinaldehyd- Phosphorsäure.	27
<i>Apiculatus</i> -Hefen.	78	Chlamydosporen.	127	Glykogen.	29
Arginin.	52	Chondriochoris.	32	Glykogenase.	44
Asparagin.	53	Chondriokinesis.	32	Glykogenreaktion.	30
<i>Aspergillaceae</i>	130	Chondriom.	33	Granula.	31
<i>Aspergillus glaucus</i> 131		Chondriosomen.	31, 89	Großraumgär- verfahren.	206
„ <i>niger</i>	131	Chondriosomen- exkretion.	34, 89		
Asporomyces.	73	Chondriosyndesis.	33	Hair-Bacillus.	118
Auslesehefen.	153	Citromyces.	130	Hansenula Sydow.	93
Autolyseprodukte.	63	<i>Cladosporium cellare</i> 138		Haplophase.	38
Azotobacter.	58	Co-Carboxylase.	48	Hefeansatz.	179
		Coccidiascus.	73	Hefe, biologischer Kreislauf.	37
<i>Bacillus amaracrylus</i> 118		Co-Ferment.	44	„ diploide Zellen.	38
„ <i>amylobacter</i>	122	Cystein.	51	„ haploide Zellen.	38
„ <i>viscosus vini</i>	117	Cytase.	137	„ Genetik.	36
<i>Bacterium ascendens</i> 125				„ -flora.	24
„ <i>coli</i>	100	Degenerationsformen 101		„ Mendelspaltung.	36
„ <i>Gayoni</i>	117	Dehydrase.	45	„ Mutationsaus- lösung.	35
„ <i>gracile</i>	113	<i>Dematium</i> -Hefen.	133	„ -sporen.	43
„ <i>intermedium</i>	117	„ <i>pullulans</i>	133	Hefentrockengewicht 200	
„ <i>Küntzingianum</i>	124	Desmolase.	27, 45	Hefe, Variabilität, Mutation.	34
„ <i>mannitopoeum</i>	115	Dioxyacetonphosphor- säure.	27	Hefezüchtung.	42
„ <i>Pasteurianum</i>	124	Dipeptidase.	45	Heranführung der Hefe.	196
„ <i>tartarophthorum</i>	116	Diplokokken.	101	Heteroauxin.	52
„ <i>xylioides</i>	124			Hexosediphosphor- säure.	27
„ <i>xylinum</i>	124	Eisengehalt der Hefe 170		Hybridisierung.	42
Basidiomycetes.	71	Eisen- und Kupfer- gehalt.	168	Hydrolasen.	44
Baumwollschimmel 118		Eisenphosphat- trübungen.	206	β -Indolylessigsäure.	52
Belüftete Hefe- anzucht.	157	<i>Endomyces vernalis</i>	58	Innere Oberfläche des Gärgutes.	154
Beschwerung.	67	<i>Endomycetaceae</i>	71	Invertase.	44
Biokatalysatoren.	46	Entschleimung.	156	Involutionsformen.	101
Biologischer Säure- abbau.	106	Enzyme.	44	Isolierung.	40
Biosfaktor.	51	Essigsäurebakterien 122		Jochhefen.	77
Biotin.	51	Essigsäuregärung.	123	Kahmhefen.	86
Blauschönung.	188, 194	Essigsäuregehalt.	174	Kahmhüter.	89
Blauwerden des Schaumweines.	205	Exitatin.	47, 52		
<i>Botrytis cinerea</i> 9, 19, 21, 134		Federweißer.	49		
Braunfäule.	145	Fermente.	44		
Brenztraubensäure 26, 27		Fraktionierte Kel- terung.	190		
Brettanomyces 40, 74, 94					

- Kaltgärhefen 75
 Kaltgärung . . 148, 198
 Katalase 46
 Keimgehalt der Obst-
 säfte 20
 „ von Traubenbeeren 20
 Kochsche Plattenguß-
 methode 40
 Kohlensäure 176
 Kokkenformen 101
 Kombouchapilz 175
 Kupfergehalt 168
 Kupfer als Störungs-
 faktor 170
 Kurztriebwachstum 38

 Lactase 45
Lactobacillus hilgardii 118
 Lactoflavin 47, 50
 Leberstärke 29
 Lenkung des Säure-
 abbaues 112
 Lindnersche
 Tröpfchenkultur 41
 Lipase 45
Leuconostoc mesen-
teroides 142
 Lysin 53

 Maltase 45
 Mäuseln 119
 Melibiase 45
Merulius domesticus 144
Merulius silvester . . 144
 Meso-Inosit 51
 Methionin 53
 Methylacetylcarbinol 46
 Methylglyoxal 26
Micrococcus acido-
vorax 115
 „ *malolacticus* . 108, 114
 „ *variococcus* 115
 Mikrokondensation. 140
 Mikromanipulator 42
 Mikrosomen 31
 Milchsäurestich 206
 Milchschimmel 143
 Monosporella 73
 Möslingerschönung. 194
 Mostschwefelung 163
 Mucoraceen 66
Mucor racemosus . . . 128
 „ *Ramannianus* 49
 „ *Rouxii* 129
 Mycoine 137
Mycoderma 33, **90**, 183
 „ *Bordetti* 58
 „ *cucumeri* 54
 „ *vini* 55
Mycotoruloideae . . . 97

Nectaromycetaceae . . 73
 Nematospore 73
 Nikotinamid 47
 Nikotinsäure 47
 Nikotinsäureamid 50
 Nuclease 45

 Oidien 26, 126
Oidium lactis 143
 Osmotischer Gegen-
 druck 152
Oospora lactis 143
 Oxydatives Stadium 59

 Pantothensäure 51
 Pediokokken 101
 Pellagraschutzstoff. 50
 Penicillin 182
Penicillium glaucum 19,
 132
 „ *purpurogenum* . . . 132
 Phenole 63
 Phosphatase 45
 Phosphorglykoproteid 28
 Phosphorylierung 27
Phycomyces Blake-
sleanus 48
 „ -Methode 48
Phycomyces nitens . . . 48
 Phycomycetes 127
 Phytin 51
Pichia 33
 „ *farinosa* 55, 58, **92**, 93
 „ *membranaefaciens*
 55, 93
 Pityrosporum 73
 Plasmoptyse 33
 Plectascales 130
 Polyphenolase 137
 Polyploidisierungs-
 vorgänge 40
Poria vaporea 144
 Proteasen 45
 Protoascomycetes 71
 Proteinase 45
 Pseudosaccharo-
 myceten 90
 Pufferung 67
 Pyrimidin 49

 Radiumrasse B 35
 Raffinase 45
 Rasseeigenschaften
 von Hefen 184
 Redoxpotential **63**, 87,
 157, 205
 Reduction Francois 188
 Reductin Robinet 188
 Reduktase 45
 Regenerationsformen 101

 Reinhefe 179
 Reingärung 177
 Reinkultur 40
Rhacodium cellare . . . 140
Rhodotorula 97
 „ *rubra* 49
Rhizopus Delemar . . . 129
 „ *nigricans* 129
 rH-Zahlen 65, 205
 Riboflavin 47, 50
 Rosahefen 71
 Rußtaupilz 21

 Saccharase 44
Saccharomyces cere-
visiae 15, 24, 42, **74**
Saccharomycodes
 Behrensianus 83
 „ *bisporus* 83
 „ *Ludwigii Hansen*
 58, **82**, 83
 „ *Mestris* 83
Saccharomyces validus 42
 Sarcinen 101
 Sauerstoff 156
 Sauser 49, 202
 Schaumweinberei-
 tungsgeschichte 187
 Schaumwein-
 bereitung 186
 Schaumweinhefen 75
 Schizoblastosporion 73
Schizosaccharomyces 17
 „ *Lindner* **84**
 „ *octosporus* 58
 „ *Pombe* 32, 84
 Schleimhefen 97
 Schwanniomycetes 71
 Schwefelfresser 69
 Sklerotien 127
Sclerotinia Fucke-
liana 134
 Sektorialmutanten 34/35
 Serin 53
Sorbus domestica . . . 172
Sphaerulina inter-
mixta 133
 Spotangärung 177
 Sporobolomyces 71
 Stickstoffdüngung
 der Hefe 166
 Stickstoffgehalt 165
 Stickstoffhaushalt
 der Hefe 52
 Stillwein 194
Streptobacterium
 plantarum 51
 Streptococcus 101, 103
 Streptomycin 182
 Sulfitgärung 160
 Sulfithefen 75

Temperaturfaktor	147	Trehalase	45	Weißfäule	145
<i>Termobacterium</i>		Trichospora	74	Wettbewerb	182
<i>mobile</i>	84	Trigonopsis	73	<i>Willia anomala</i>	93
Thiamin	47	Triosephosphorsäure	27	„ <i>saturnus</i>	93
Thiazol.	49	Trockenhefen	181		
<i>Torula</i> -Hefen	97			Zellzygote	39
„ <i>nigra</i>	58	Uebertemperaturen	150	Zoogloee	103
„ <i>rubescens</i>	47			Zuckerpilz	21, 22, 28
„ <i>rubra</i>	47	Versiedebereich	150	Zuckerstaffelung	154
„ <i>sanguinea</i>	47	Vitamine	46	Zwergzellen	98
„ <i>Wiesneri</i>	53	Vitaminisier.-Effekt	202	<i>Zygosaccharomyces</i>	
Torulen	47			<i>varabilis</i> 76, 159, 183	
<i>Torulopsis pulcher-</i>		Wasserstoffionen-		Zymohexase	27
<i>rima</i>	34, 73	konzentration	63		

Autoren-Verzeichnis

Abderhalden, R. 44, 51	Douglas 118	Kater, J. Mc. 31
Aderhold 14	Draczinski, M. 202	Kiene, E. 140, 141
Adler, E. 151	Dugast, J. 151	Kißling, W. 17, 27
Afrikanian 15	Dvornik, R. 16, 73, 79, 80	Klöcker 93
Agostini, O. 40, 94, 95, 96		Kluyver 27
Alas 58, 59, 61, 184	Emden 27	Koch, A. 14, 107
	Euler, v. H. 151	Kossowicz 54
Badian, J. 31		Kramer, E. 103, 117
Baltatu, E. 16, 73, 86,	Feduchy, E. 16, 58, 59,	Kroemer, K. 15, 21, 77,
90, 91	61, 82, 83, 184	78, 82, 83, 153, 175
Baragiola, W. I. 15, 108,	Filipovič 70	Krug 108
109, 111	Fischer, E. 14	Kruis 17
Barker, B. T. P. 36, 76	Francois 188	Krumbholz, G. 15, 77,
Bauch, R. 35	Frei, H. 18, 55, 56	78, 94, 96, 153
Beams, H. W. 31	Fulmer 54	Kulisch, P. 108, 109, 166
Beijerinck 73, 85		Kützing 10, 25
Berand, P. 35	Gay-Lussac 10, 25	
Berkhout, Chr. M. 96	Genaro, A. 16	Laborde 137
Berzelius 10	Giordano, A. 72	Lacassagne, A. 35
Blakeslee 39	Godet 15, 109, 111	Langeron, M. 72, 84
Bobadilla, G. F. de 60, 61	Goetsch, W. 52	
Buchner, E. 14, 26	Guéguen 138.	Laustsen, O. 17, 30, 36,
Burcik, E. 104	Guilliermond 17, 31, 36	42, 43, 74, 77
		Lavoisier 10
Cagniard-Latour 25	Halenke 108	Lebedew 27
Cannizaro, St. 26	Hansen, Chr. E. 12, 13,	Lederer, E. 47
Castelli 79, 80	17, 18, 74, 186, 188	Leeuwenhoek, van A. 9
Christian, W. 17	Harden-Young 17	Liebig, J. 10, 11, 12, 25
Christensen 54	Hartelius, V. 52, 53	Lindner, P. 41, 54, 85, 96
Ciferri, R. 72	Heinrich 82, 83	Lipman 53
Clemm, T. 172	Heinze, B. 54	Lohmann 27
Clung, Mc 118	Hennig, K. 59, 104, 111,	Lodder, J. 72, 73, 74, 91,
Cruess, W. V. 16, 60, 63,	194, 201, 202	96
118	Henrici, A. T. 34, 80	Lüers 175
Custers, M. Th. 94	Hilgard, E. W. 118	
	Hirsch 46	Mach 122
Dahlgren, G. 151		Manceau, E. 109, 167,
Diddens, H. A. 72, 73,	Jörgensen, A. 85	188, 191, 196, 197
74, 96	Just, F. 26	

- Marcandier, E. 100
 Marcilla, J. 16, 18, 58, 59, 60, 61, 82, 83, 184
 Marcuta, C. 179
 Maumené 188
 Meißner, R. 14, 87, 92
 Mensio 15, 83, 167
 Meyen, F. J. 10
 Meyerhof 17, 27
 Mihnea 61, 194
 Mitscherlich 10
 Müller 54
 Müller-Thurgau 13, 14, 15, 18, 19, 20, 22, 24, 78, 101, 112—122, 134—136, 150, 151, 165, 175, 176, 182, 183
 Nadson, G. 35
 Niehaus, C. J. G. 15, 73, 78—81
 Nielsen 52, 53
 Neuberg, v. C. 17, 26, 27, 46, 123
 Neumann 54
 Ohske 111, 201, 202
 Omeis 108
 Osterwalder 15, 96, 101, 115, 122, 149, 159
 Pasteur, L. 12, 13, 18, 99, 118, 188
 Perignon, D. 187, 189
 Peynaud 112
 Phillippov, G. 35
 Portele 122
 Poschenrieder, H. 104
 Prostosserdow 15, 16
 Punkari, L. 34
 Ribéreau-Gayon 112, 138, 171, 172
 Rippel, K. 49, 109, 110
 Robinet 188
 Rudolph, W. 46
 Redaelli, P. 72
 Rees 74
 Rentschler 137
 Sabrazes, J. 100
 Sacchetti, M. 78
 Satava 17
 Saylor, S. 52
 Schanderl, H. 15, 16, 18, 57, 65, 81, 104, 119, 138, 140, 141, 146, 168, 194
 Schätzlein, Chr. 106
 Scheckenbach, H. W. 53
 Scheele 10
 Schmitthenner, F. 11, 15, 94, 155, 156, 177
 Schnegg, H. 98, 99
 Schoen, M. 35
 Schopfer, W. 48
 Schulle, H. 177, 183
 Schulz, W. 17
 Schwann 10, 25, 74
 Seifert, W. 14, 108, 115
 Shinoto, Y. 31
 Spallanzani, L. 10
 Stahl 10
 Stelling-Dekker, N. M. 72—74, 77, 82, 84, 93
 Stührk, A. 104
 Struyk 27
 Sulkin, N. M. 31
 Talice, R. V. 72
 Tauschanoff 94, 96
 Thénard, L. J. 10
 Thierfelder 14
 Thren, R. 48
 Tour, de la Cagniard 10
 Traube, M. 14
 Vavasseur 187
 Villforth, F. 59, 104
 Vogt, E. 194
 Vučković 41, 42
 Warburg, O. 17
 Weast 60
 Weidenhagen, R. 159
 Weigand, K. 98, 99
 Wienke, L. 98
 Wieland 123
 Willis 10
 Winge, Oe. 17, 30—32, 36, 38, 42, 43, 74, 77
 Wöhler, F. 11
 Wortmann, J. 13, 14, 30, 140, 141, 158, 159
 Wüstenfeld 124
 Yamanoto, Y. 42
 Yuasa, A. 31
 Zell, L. W. 31
 Zikes 53, 80

Weitere Schriften von Prof. Dr. Hugo Schanderl:

Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage

2. Auflage erscheint voraussichtlich Ende 1950; Bestellungen werden vorgemerkt. ... Bestätigen sich die Ergebnisse der Versuche von Prof. Schanderl und die daraus abgeleiteten Gesetze, dann stehen wir einer Forschungstat von revolutionärem Ausmaß gegenüber mit umwälzenden Konsequenzen für die theoretische und angewandte Biologie und damit auch für die Praxis des Pflanzenbaues, der Pflanzenselektion und -züchtung von heute noch nicht abzusehender Bedeutung...

„Die deutsche Landwirtschaft“, Berlin. 1. Jg. Nr. 9.

Die Befruchtungsbiologie der Obstgewächse

und ihre Anwendung in der Praxis. Von Prof. Dr. C. F. Rudloff und Prof. Dr. Hugo Schanderl. 3. Auflage. 146 Seiten mit 40 Abbildungen. Preis DM 4.40. (Heft 64 der Sammlung: Grundlagen und Fortschritte im Garten- und Weinbau.)

— Siehe auch nächste Seite —

Weinbau, Kellerwirtschaft und Obstverwertung

einschl. Süß- und Gärmostbereitung

Lehrbuch des Weinbaues

Von Prof. Dr. Ernst Vogt, Direktor des Staatl. Weinbauinstituts Freiburg, unter Mitarbeit zahlreicher Spezialisten. Etwa 240 Seiten mit vielen Bildern. Preis geb. etwa DM 9.50. Erscheint Ende 1950.

Aus dem Inhalt: Geschichte des Weinbaues — Ausarbeitung und wirtschaftliche Bedeutung — Die deutschen Weinbaugebiete — Die wichtigsten Rebsorten — Bau und Leben des Weinstocks — Die Arbeiten im Weinberg (Bodenbehandlung, Rigolen, Auszeilen, Das Pflanzen der Reben, Unterstützung, Erziehung, Rebenschnitt, Laubbehandlung, Unkrautbekämpfung, Bodenbearbeitung) — Die Düngung der Reben — Die Krankheiten des Weinstocks und ihre Bekämpfung — Die Rebschädlinge und ihre Bekämpfung — Die Reblaus und ihre Bekämpfung — Die Rebenveredlung — Die Rebenzüchtung.

Schädlingsbekämpfung im Weinbau

Von Prof. Dr. F. Stellwaag, Geisenheim a. Rh. 2. neubearbeitete und erweiterte Auflage. 112 Seiten mit 74 Abbildungen. DM 3.85.

„... Einer unserer besten Sachkenner auf diesem Spezialgebiet behandelt in dem vorliegenden Büchlein die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge, daneben auch Witterungs- und Kulturschäden der Rebe, wobei die vorgeschlagenen Bekämpfungsmaßnahmen auf die neuesten Erkenntnisse und Erfahrungen abgestellt sind ...“

„Der Badische Obst- und Gartenbauer“, 3. Jg. Nr. 4.

Künstliche Beregnung von Rebkulturen

Von Direktor Ernst Klenk, Weinsberg. 22 Seiten mit 5 Abbildungen. DM —.80.

Die Herstellung und Anpflanzung von Pfropfreben

Von Alfred Dümmler †, weiland Weinbauoberinspektor in Freiburg/Br. 2. Aufl. neubearbeitet und herausgegeben von Dr. Ernst Vogt und Erwin Brunner, Staatl. Weinbauinstitut Freiburg/Br. 34 Seiten. Mit 6 Abbildungen DM 1.30.

Tafeltraubenzucht an sonnigen Gebäudewänden

Von Landesökonomierat a. D. Friedr. Gräter. 30 Seiten. Mit 18 Abb. DM 1.20.

Der Wein

seine Bereitung, Behandlung und Untersuchung. Von Prof. Dr. Ernst Vogt, Direktor des Staatl. Weinbauinstituts Freiburg i. Br. 234 S. mit 39 Abb. Geb. DM 9.50. Aus dem Inhalt: Weinbau und Weinrebe (Geschichtliches, Geographisches, Traubensorten) — Die Weinbereitung (Mostgewinnung, Gärung, Ausbau der Weine, Schwefeln, Klären, Flaschenabfüllung usw.) — Verbesserung der Moste und Weine — Fehler und Krankheiten der Weine — Zusammensetzung und Beurteilung der Weine — Verwertung der Weinrückstände (Trester und Hefe) — Dessertweine — Schaumweine — Obst- und Beerenweine — Weinhaltige Getränke — Untersuchung des Mostes und Weines — Das Weingesetz.

Der Wein und seine Beurteilung

Von Direktor Ernst Klenk, Weinsberg. Etwa 150 Seiten mit Tabellen. Preis etwa DM 6.—. Erscheint im November 1950.

Ein nicht nur für Weinerzeuger und -händler, sondern auch Küfer und Wirte, nicht zuletzt alle Freunde des Weines sehr lesenswertes neues Buch über Weinprobe und Weinbeurteilung, wobei auf Farbe, Klarheit, Geruch und Geschmack des Weines (mit Bewertungsbeispielen) näher eingegangen ist. Eine moderne Bearbeitung dieses interessanten Gebiets fehlte bisher im ganzen deutschen Schrifttum.

Kellerwirtschaftlicher Leitfaden

Von Reg.-Chemierat M. Fischler, Augustenberg. 3. Auflage. 46 Seiten. DM 1.10.

Das Weingesetz vom 25. Juli 1930 (Textausgabe)

32 Seiten. DM 0.50.

Chemische Untersuchungsmethoden für Weinbereiter und Süßmosthersteller

Von Prof. Dr. K. Hennig. 3. Auflage. 102 Seiten, 11 Abb. DM 4.—. (Heft 43.)

Fruchtweinbereitung nach alten und neuen Verfahren (Sherrysierungsverfahren)

für Gewerbe und Haushalt. Von Prof. Dr. H. Schanderl und Dr. J. Koch. 3. Auflage erscheint im Herbst 1950. Preis etwa DM 3.—.

Handbuch des Süßmosters

Von J. Baumann, Direktor der Lehr- und Versuchsanstalt für gärungslose Früchteverwertung, Ober-Erlenbach. 3. erweiterte Auflage. 289 Seiten mit 180 Abbildungen. Gebunden DM 10.50.

Seit über 35 Jahren arbeitet Direktor Baumann für die Herstellung und Einführung der Süßmoste. Die dabei gesammelten einzigartigen Erfahrungen gibt der Verfasser in vorliegendem Buch preis zum Nutzen der Allgemeinheit.

Gärungslose Obst- und Beerenverwertung

Herstellung von unvergorenen Obst-, Beeren- und Traubensäften. Von Dir. J. Baumann, Ober-Erlenbach, und Süßmostfachberater C. Schließmann, Schw. Hall. 7. Auflage. 51 Seiten mit 29 Abbildungen. DM 1.50.

EUGEN ULMER · STUTTGART / z. Z. LUDWIGSBURG
VERLAG FÜR LANDWIRTSCHAFT, GARTENBAU UND NATURWISSENSCHAFTEN



C. F. T. R.
 Acc No. 2901
 Call No. F85
 F8,
 Please return
 last DUE DATE
 overdue charges.

Call No. ~~F85, 32961: (G17)~~ 11350
F8, 32961: (GV) 113 N50

Please return this publication on or before the last DUE DATE stamped below to avoid incurring overdue charges.

[illegible]

2901

Die mikrobiologi.

~~1961-10~~ (GIT) •
~~1967~~ 113 Id
NDERL
ologic •

